



**You have downloaded a document from
RE-BUS
repository of the University of Silesia in Katowice**

Title: Synteza i badania właściwości fizykochemicznych wybranych pochodnych tetra-aryloporfiryn

Author: Anna Pasewicz-Sokół

Citation style: Pasewicz-Sokół Anna. (2010). Synteza i badania właściwości fizykochemicznych wybranych pochodnych tetra-aryloporfiryn. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersytet ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

UNIwersytet śląski w Katowicach
Instytut fizyki im. Augusta Chełkowskiego

ANNA PASEWICZ - SOKÓŁ

**SYNTEZA I BADANIA WŁAŚCIWOŚCI
FIZYKOCHEMICZNYCH WYBRANYCH
POCHODNYCH TETRA-ARYLOPORFIRYN**

**Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem:
prof. dr hab. Alicji Ratusznej
dr hab. Piotra Kusia**

KATOWICE 2010

Rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Fizyki Ciała Stałego Instytutu Fizyki im. Augusta Chelkowskiego oraz Zakładzie Syntezy Organicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego.

Pomiary synchrotronowe zostały wykonane w Europejskim Centrum Synchrotronowym (European Synchrotron Radiation Facility) w Grenoble, we Francji.

Pomiary kwantowej wydajności tlenu singletowego wykonano w zespole Chemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej Wydziału Chemii UJ.

Badania przedstawione w niniejszej rozprawie były częściowo finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach realizowanego grantu badawczo – rozwojowego nr: R0504303.

Podziękowania

*Serdeczne podziękowania pragnę złożyć Pani **prof. dr hab. Alicji Ratusznej** za umożliwienie realizacji pracy, okazaną pomoc, cenne uwagi, opiekę i życzliwość*

*Wyrazy wdzięczności składam Panu **dr hab. Piotrowi Kusiowi** za okazaną życzliwość, opiekę, a także za pomoc w toku syntezy związków do badań oraz udzielane mi cenne wskazówki na każdym etapie badań*

*Panu **prof. dr hab. Andrzejowi Burianowi** dziękuję za wprowadzenie w świat pomiarów synchrotronowych oraz owocną współpracę*

*Dziękuję Panu **dr hab. Ramanowi Wrzalikowi** za przeprowadzenie symulacji komputerowych wykorzystywanych do obliczeń w ramach mojej pracy*

*Pani **prof. dr hab. Grażynie Stochel** jestem wdzięczna za możliwość przeprowadzenia pomiarów w zespole przez nią kierowanym*

*Panu **Dr Jackowi Kołoczkowi** za uczestnictwo w pomiarach*

SPIS TREŚCI

SPIS TREŚCI	1
PRZEDMOWA	3
1. WPROWADZENIE	4
1.1. RYS HISTORYCZNY	4
1.2. PODSTAWY I MECHANIZM TERAPII FOTODYNAMICZNEJ	5
1.3. WŁAŚCIWOŚCI DOBREGO FOTOUCZULACZA	6
1.4. STOSOWANE FOTOUCZULACZE	7
1.5. PORFIRYNY JAKO FOTOUCZULACZE	8
1.6. CHARAKTERYSTYKA PORFIRYN	9
2. ZAŁOŻENIA I CEL ROZPRAWY	12
3. SYNTEZA MEZO-PODSTAWIONYCH POCHODNYCH PORFIRYN	13
4. METODY OCZYSZCZANIA I ROZDZIELANIA PORFIRYN	16
5. IDENTYFIKACJA ZWIĄZKÓW Z WYKORZYSTANIEM METOD INSTRUMENTALNYCH	18
6. FIZYCZNE METODY BADANIA PORFIRYN	19
6.1. SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE	19
6.2. SPEKTROSKOPIA EMISYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE	20
6.3. WIDMA ABSORPCJI I EMISJI PORFIRYN W ZAKRESIE UV/VIS	22
6.4. SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI	23
6.5. WIDMA ABSORPCJI PORFIRYN W ZAKRESIE PODCZERWIENI	24
6.6. LASEROWA FOTOLIZA BŁYSKOWA	25
7. ODDZIAŁYWANIE PROMIENIOWANIA RENTGENOWSKIEGO Z MATERIAŁ	26
7.1. ROZPRASZANIE PRZEZ MATERIAŁ NIEUPORZĄDKOWANY	27
7.2. PROMIENIOWANIE SYNCHROTRONOWE	29
7.3. EUROPEJSKIE CENTRUM PROMIENIOWANIA SYNCHROTRONOWEGO - EUROPEAN SYNCHROTRON RADIATION FACILITY	31
8. METODY OBLICZENIOWE	32

8.1.	TEORIA FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI	33
8.2.	BAZY FUNKCYJNE	36
9.	SYNTEZA POCHODNYCH TETRA-ARYLOPORFIRYN.....	37
9.1.	SYNTEZY JEDNOETAPOWE	38
9.2.	SYNTEZY WIELOETAPOWE	40
10.	IDENTYFIKACJA ZWIĄZKÓW Z WYKORZYSTANIEM METOD INSTRUMENTALNYCH: SPEKTROMETRII MASOWEJ I SPEKTROSKOPII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO	46
10.1.	SPEKTROMETRIA MASOWA	46
10.2.	SPEKTROSKOPIA MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO (^1H NMR)	47
	DLA DWÓCH POCHODNYCH P3 I P7 KONIECZNE BYŁO DODATKOWE WYKONANIE DWUWYMIAROWYCH WIDM PROTONOWEGO REZONANSU MAGNETYCZNEGO (COSY – SPEKTROSKOPIA KORELACYJNA), W CELU ZIDENTYFIKOWANIA SPRZĘGAJĄCYCH SIĘ PROTONÓW.	51
11.	SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE	54
12.	SPEKTROSKOPIA EMISYJNA – FLUORESCENCJA	56
13.	SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI	58
13.1.	MODELOWANIE CZĘSTOŚCI DRGAŃ Z WYKORZYSTANIEM TEORII FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI	62
14.	LASEROWA FOTOLIZA BŁYSKOWA	83
14.1.	KWANTOWA WYDAJNOŚĆ TLENU SINGLETOWEGO	84
15.	OKREŚLENIE STRUKTURY KRystalicznej z WYKORZYSTANIEM METOD DYFRAKCJI RENTGENOWSKIEJ ..	88
15.1.	RENTGENOWSKIE BADANIA MATERIAŁÓW POLIKRYSTALICZNYCH	88
15.2.	POMIARY Z ZASTOSOWANIEM PROMIENIOWANIA SYNCHROTRONOWEGO	90
15.3.	MODELOWANIE FUNKCJI KORELACJI PAR ATOMÓW Z WYKORZYSTANIEM TEORII FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI	101
16.	PODSUMOWANIE I DISKUSJA UZYSKANYCH WYNIKÓW	113
	SPIS PUBLIKACJI I PREZENTACJI KONFERENCYJNYCH.....	118
	BIBLIOGRAFIA	120

PRZEDMOWA

Rozwój choroby nowotworowej trwa długie lata. Spora część tego okresu może przebiegać niemal bezobjawowo, a pojawienie się niepokojących symptomów zwykle występuje w znaczym stopniu zaawansowania choroby. Powszechnie stosowane techniki diagnozowania są niejednokrotnie niewystarczająco czułe, by odpowiednio wcześnie zlokalizować źródło ogniska chorobowego. W toku leczenia nowotworów standardowe metody medyczne takie jak: metody chirurgiczne, chemioterapia czy radioterapia często bywają nieskuteczne. Inwazyjne techniki takie jak metody operacyjne wiążą się z pewnym stopniem okaleczenia pacjenta. Nierzadko stan zdrowia pacjenta lub jego wiek nie pozwalają na przeprowadzenie agresywnej terapii, pozostając jedynie przy leczeniu objawowym.

W związku z niedoskonałościami powszechnie stosowanych metod leczenia nowotworów poszukiwane i badane są inne techniki walki z rakiem. Jedną z uznanych w świecie medycznym i coraz częściej stosowanych metod jest terapia fotodynamiczna. Metoda ta wiąże się z zastosowaniem tzw. fotouczulacza, który wprowadzony do organizmu ma zdolność wybiórczego gromadzenia się w szybko rozwijających się tkankach, a po naświetleniu falą o danej długości zapoczątkowuje proces obumierania komórek. Technika ta z powodzeniem stosowana jest w leczeniu niektórych typów nowotworów jak również innego rodzaju schorzeń o podłożu m. in. dermatologicznym czy okulistycznym. Istotnym aspektem terapii fotodynamicznej jest fakt, iż jest to metoda praktycznie bezinwazyjna. Nie jest jednak metodą pozbawioną wad. Często siła działania fotouczulacza nie jest wystarczająca do zniszczenia całej zmiany chorobowej, bądź też promieniowanie użyte do wzbudzenia jego cząsteczek nie penetruje tkanek dostatecznie głęboko, co ma znaczny wpływ na efektywność terapii. Nie bez znaczenia pozostają także uciążliwe dla pacjenta efekty uboczne, takie jak nadwrażliwość na światło. Niedoskonałość obecnie stosowanych preparatów sprawiła, iż w wielu ośrodkach na świecie trwają poszukiwania leku mającego zapewnić optymalne warunki stosowania terapii fotodynamicznej. Pożądany materiał powinien stanowić najlepiej pojedynczy związek, o dobrze poznanych parametrach fizykochemicznych, których wartości zapewniłyby większą skuteczność metody fotodynamicznej w starciu z chorobą nowotworową. W związku z czym istotne jest w toku poszukiwania nowych fotouczulaczy przeprowadzenie pełnej charakterystyki właściwości fizykochemicznych potencjalnych medykamentów, istotnych dla zastosowań w terapii przeciwnowotworowej.

1. WPROWADZENIE

1.1. RYS HISTORYCZNY

Już starożytni Egipcjanie zaobserwowali, iż ekspozycja na światło słoneczne osób cierpiących na bielactwo, po uprzednim podaniu psoralenów, przynosiła pozytywne efekty terapeutyczne. Na przełomie XIX i XX wieku Oscar Raab, ówczesny student medycyny, zauważył obumieranie prostych organizmów jednokomórkowych (pantofelków) w wyniku działania akrydyny, przy dostępie światła dziennego (Raab 1900). Późniejsze badania potwierdziły fototoksyczność także innych barwników (np. eozyny, chininy) oraz rolę tlenu w zachodzących reakcjach (Ledoux-Lebards, Hasselbach). Proces obumierania komórek, w obecności pewnych barwników, inicjowany poprzez naświetlenie nazwano efektem fotodynamicznym. Zainteresowanie tematyką fotodynamiczną oraz rozwój badań nad tym procesem zaowocowały pomysłem wykorzystania efektu fotodynamicznego w medycynie (von Tappeiner, Jesionek, Jodlbauer). W 1903 roku przeprowadzony został pierwszy współczesny eksperyment terapii fotodynamicznej. Eozyna stanowiąca tzw. fotouczulacz (fotosensybilizator), wzbudzana była promieniami słońca, w wyniku czego działała na nowotworowo zmienione tkanki skóry. Jesionek, von Tappeiner i Posselt przeprowadzali pierwsze terapeutyczne eksperymenty z wykorzystaniem reakcji fototoksycznych do leczenia nie tylko nowotworów, lecz także takich schorzeń jak gruźlica czy kiła (von Tappeiner H., Jesionek A. 1903; von Tappeiner H., Jodlbauer A. 1907).

W latach dwudziestych XX wieku fluorescencja endogennych porfiryn zgromadzonych w guzach nowotworowych została zarejestrowana przez Policarda (Policard A. 1924), co przyczyniło się do stworzenia przez Lipsona, w latach sześćdziesiątych, podstaw diagnostyki fotodynamicznej (deteckcja fluorescencji pochodnych hematoporfiryny). Figge, Wieland i Manganiello (1948 rok) zaobserwowali zwiększoną kumulację hematoporfiryny oraz jej pochodnej cynkowej w tkankach nowotworowych, co potwierdziło wcześniejsze doniesienia o tej właściwości porfiryn Aulera i Banzera z czasów drugiej wojny światowej (Dolphin 1978; Podbielska i inni 2004). Zainteresowanie badaczy efektem fotodynamicznym zaowocowało opracowaniem nieinwazyjnych metod leczenia i rozpoznawania raka, które nazwano terapią fotodynamiczną (Photo Dynamic Therapy - PDT) i diagnostyką fotodynamiczną (Photo Dynamic Diagnostic - PDD).

Powstanie źródeł światła opartych na technice laserowej i światłowodowej umożliwiło

znaczy rozwój PDT i PDD, ze względu na możliwość precyzyjnego naświetlenia obszarów objętych patologią. W roku 1978 przedstawione zostały opinii publicznej wyniki pierwszych efektów terapii z zastosowaniem pochodnej hematoporfiryny w leczeniu nowotworów u ludzi (Kelly, Snell, Dougherty). Dougherty opisał parametry dobrego fotouczulacza, który powinien charakteryzować się m. in. wybiórczą kumulacją w tkankach nowotworowych, nietoksycznością dawki terapeutycznej, aktywnością fotochemiczną oraz absorpcją światła z zakresu bliskiej podczerwieni. Terapia fotodynamiczna stanowiąca potencjalną, nieinwazyjną metodę leczenia raka stała się obiektem zainteresowania naukowców, lekarzy oraz pacjentów. (Dougherty T.J. 1974, 1987, 1998)

Obecnie w leczeniu chorób o podłożu nowotworowym stosowanych jest kilkanaście różnych fotouczulaczy (Graczyk A. 1999; Dolmans i inni 2003). Część preparatów to mieszaniny, w których nie wszystkie składniki stanowią substancje czynne. Terapia fotodynamiczna wykorzystywana jest również w nieonkologicznych gałęziach medycyny i nauk pokrewnych np. w mikrobiologii, dermatologii lub reumatologii. Wprowadzenie PDT do grona standardowych technik medycznych ujawniło pewne wady tej metody. Nadwrażliwość pacjentów na światło słoneczne w trakcie kuracji, bądź też niewystarczająca siła działania substancji fotouczulającej wynikająca np. z niewystarczającej penetracji tkanek przez światło wzbudzające fotouczulacz czy niedostatecznej jego kumulacji w chorych tkankach, spowodowały, iż wciąż poszukiwane są związki zapewniające optymalne warunki i wyniki leczenia.

W poszukiwaniu nowych preparatów do zastosowań w terapii czy diagnostyce fotodynamicznej należy zaznajomić się z mechanizmami zachodzącymi podczas efektu fotodynamicznego oraz poznać biologiczne aspekty tej metody związane z konkretnymi właściwościami fizykochemicznymi związku uczulającego.

1.2. PODSTAWY I MECHANIZM TERAPII FOTODYNAMICZNEJ

Terapia fotodynamiczna wymaga obecności trzech zasadniczych czynników: substancji fotouczulającej, światła oraz tlenu. Każdy z wspomnianych składników jest z osobna nieaktywny, dopiero ich wspólne działanie umożliwia destrukcję chorych komórek.

PDT jest metodą leczenia polegającą na podaniu pacjentowi fotosensybilizatora, ulegającego w odpowiednim interwale czasowym kumulacji w komórkach objętych

patologią, a następnie naświetleniu zmian światłem, które aktywuje proces niszczenia tkanek. Wybiórcze gromadzenie się substancji światłoczułych w szybko namnażających się tkankach stanowi nie tylko podstawę terapii lecz także diagnostyki fotodynamicznej, w której lokalizację guza określa się poprzez rejestrację fluorescencji barwnika. Mechanizmy zachodzące podczas reakcji fotodynamicznej nie zostały jeszcze szczegółowo poznane, niemniej jednak udowodniono występowanie dwóch procesów, których aktywność jest regulowana przez stężenie tlenu.

Pierwszy mechanizm zachodzi w środowisku bogatym w tlen cząsteczkowy. Fotouczulacz zgromadzony w komórce ulega wzbudzeniu światłem o ściśle określonej długości fali, a następnie przechodzi ze stanu o pojedynczej krotności (stan podstawowy) do stanu trypletowego, z którego możliwy jest transfer energii do cząsteczek tlenu. W momencie przekazania kwantu promieniowania fotouczulacz powraca do stanu singletowego, powodując jednocześnie wzbudzenie tlenu. Aktywna forma tlenu, charakteryzująca się multipletowością równą jeden, wywołuje utlenianie membran organelli subkomórkowych, co prowadzi do zahamowania procesów życiowych, a następnie śmierci komórki. W przypadku niedoboru tlenu cząsteczkowego reakcja fotodynamiczna polega na oddziaływaniu wzbudzonej cząsteczki porfiryny bezpośrednio z tkanką. W tym przypadku mamy do czynienia z drugim mechanizmem. Przeniesienie elektronu lub protonu implikuje proces powstawania toksycznych dla komórek wolnych rodników.

Należy zaznaczyć, iż występowanie pierwszego mechanizmu jest bardziej pożądane, ze względu na fakt, iż tlen singletowy charakteryzuje się dłuższym czasem życia niż wolne rodniki (DeRosa 2002). Oba mechanizmy reakcji fotodynamicznej mogą również zachodzić równolegle obok siebie.

1.3. WŁAŚCIWOŚCI DOBREGO FOTOUCZULACZA

Technika fotodynamiczna stanowi nieinwazyjną metodę leczenia i diagnostyki nowotworów. Jej specyficzność pozwala na równoległe stosowanie innych metod (np. chirurgicznych) jak i wielokrotne jej powtarzanie. Zasadniczym elementem metody fotodynamicznej jest preparat fotouczulający, którego skuteczność warunkowana jest następującymi parametrami:

1. selektywnością – wykazywanie predyspozycji do wybiórczego gromadzenia się w

miejscach objętych zmianą chorobową,

2. położeniem pasm absorpcji w przedziale długości fal umożliwiającym optymalną penetrację tkanek przez światło,
3. absorpcję promieniowania o długościach fal różnych od częstości wzbudzenia składników endogennych organizmu,
4. dużą efektywnością niszczenia komórek objętych patologią,
5. nietoksycznością dla innych tkanek,
6. brakiem efektów ubocznych.

Kryteria, jakie musi spełnić dobry fotouczulacz są bardzo rygorystyczne, co powoduje iż znalezienie odpowiedniego związku jest niezwykle trudne. Poza tym efektywność procesu fotouczulającego w dużej mierze zależy od charakteru środowiska komórkowego w jakim się znajduje uczulacz (np. pH). Kumulacja uczulacza w chorych tkankach warunkowana jest zarówno swoistymi właściwościami fizykochemicznymi preparatu, jak również parametrami typowo technicznymi takimi jak: czas inkubacji lub rodzaj nośnika użytego do jego wprowadzenia. W zależności od morfologii i funkcji komórek objętych zmianą nowotworową skuteczność danego fotouczulacza także może ulegać zmianie.

1.4. STOSOWANE FOTOUCZULACZE

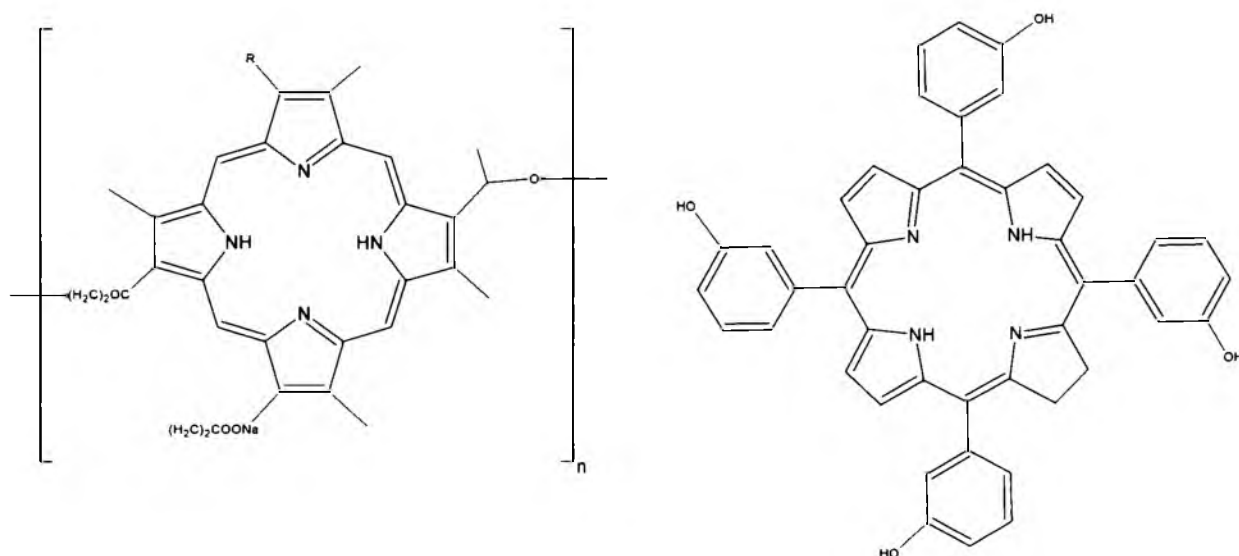
Jak już wspomniano we wprowadzeniu, na rynku medycznym obecnie dostępnych jest kilkanaście preparatów (m.in. Photofrin II, Foscan, Levulan, Verteporfin, Lutrin) o zastosowaniu w terapii bądź diagnostyce fotodynamicznej (Podbielska, Sieroń A. i inni 2004; Sieroń A., Kwiatek S. 2009). Z dużym powodzeniem stosuje się je w leczeniu nowotworów skóry, piersi, macicy, prostaty, pęcherza moczowego, płuc oraz przełyku i krtani. Obok zastosowań onkologicznych reakcja fotodynamiczna znalazła również uznanie w takich gałęziach medycyny jak dermatologia, okulistyka czy reumatologia. Dostępne fotuczulacze stanowią preparaty złożone ze związków organicznych lub ich mieszanin, gdzie podstawowe indywiduum stanowią pochodne lub prekursory porfiryń, chloryn, ftalocyjanin czy texafiryń. Wdrożone uczulacze działają na określone typy nowotworów i nie są pozbawione wad. Nadwrażliwość pacjentów na światło, kumulacja fotouczulaczy w węzłach chłonnych bądź tkankach innych narządów to tylko niektóre niedogodności związane z zastosowaniem PDT i

PDD. Często siła działania farmaceutyków jest niewystarczająca do zniszczenia całej zmiany chorobowej, bądź też zastosowane źródło światła nie penetruje tkanek dostatecznie głęboko. Problemy związane z obecnie stosowanymi fotouczulaczami rodzą potrzebę poszukiwania nowych. Badania zmierzają w kierunku pozyskania materiałów o dobrze scharakteryzowanych właściwościach fizykochemicznych, które zapewniłyby większą skuteczność metody fotodynamicznej w starciu z chorobą nowotworową.

1.5. PORFIRYNY JAKO FOTOUCZULACZE

Pochodne porfiryn stanowią grupę związków o istotnym znaczeniu w terapii i diagnostyce fotodynamicznej. Powszechnie stosowane są preparaty zawierające pochodne lub prekursory porfiryn takie jak Photofrin II (substancję czynną stanowi pochodna hematoporfiryny). Przykłady kolejnych fotouczulaczy zaliczanych do tejże grupy to tetrasulfofenyloporfiryne czy protoporfiryna, której prekursorem jest kwas aminolewulinowy (Bonnet 1995; Podbielska i inni 2005). Pochodne porfiryn należą do klasy jednych z najlepiej zbadanych związków wykazujących właściwości fotouczulające. Zapewne jest to związane z ich obecnością w organizmach żywych. Czteropirolowy układ porfirynowy stanowi podstawę budowy hemu, wchodzącego w skład hemoglobiny odpowiedzialnej za transport tlenu oraz dwutlenku węgla, jak również chlorofilu, istotnego w procesie odżywiania się roślin. Spełniają one kluczowe rolę w wielu procesach życiowych. Są barwnikami, a także katalizatorami reakcji chemicznych. Znanych jest wiele metod otrzymywania tych makrocyclicznych związków organicznych począwszy od ekstrakcji z materiałów występujących w przyrodzie, po syntezę w warunkach laboratoryjnych. Struktura pierścienia porfirynowego pozwala na przeprowadzenie modyfikacji poprzez wprowadzenie podstawników zawierających odpowiednie grupy funkcyjne. Wprowadzenie dodatkowych elementów do pierścienia pozwala uzyskać szeroką gamę związków o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Zmianie ulegać mogą takie parametry jak hydrofobowość, hydrofilowość czy zasadowość. Możliwe jest także pozyskanie cząsteczek związku o charakterze amfifilowym. Modyfikacje te są bardzo istotne z punktu widzenia terapii czy diagnostyki fotodynamicznej ponieważ charakter cząsteczek fotouczulacza ma decydującą rolę w aspekcie jego transportu do komórek. W zależności od rodzajów podstawników zmianie ulegać mogą położenie i intensywność pasm absorpcji oraz emisji

porfiryń. Podobnie sytuacja przedstawia się także dla takich parametrów jak kwantowa wydajność fluorescencji i kwantowa wydajność tlenu singletowego.



Rys. 1. Przykładowe fotouczulacze stosowane klinicznie: a) Photofrin[®]; b) Foscan[®] – 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)chloryna

1.6. CHARAKTERYSTYKA PORFIRYN

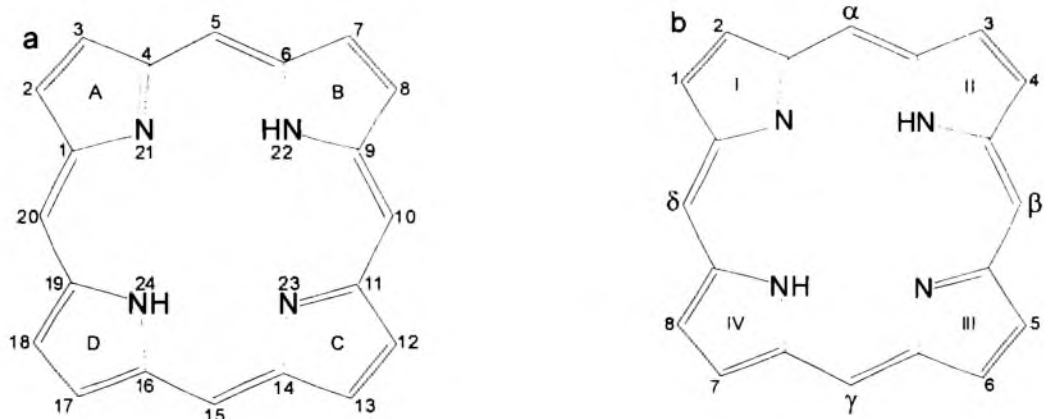
Makrocycliczne związki aromatyczne, charakteryzujące się obecnością czterech pierścieni pirolowych połączonych mostkami metinowymi przyjęto nazywać porfiryńami. Sam makrocykl, o promieniach: zewnętrznym i wewnętrznym wynoszącym odpowiednio: 5.08 i 2.01 Å, określa się jako porfinę. Układ ten zawiera 22 elektrony π , z pośród których 18 stanowią elektrony zdelokalizowane tworzące układ dziewięciu sprzężonych ze sobą wiązań typu π . Silne oddziaływanie elektronowe, powodowane przez obecność podwójnych wiązań sprzężonych, warunkuje planarność cząsteczki porfiryńy. Występowanie układu wiązań sprzężonych jest przyczyną istnienia ciekawych właściwości spektroskopowych porfiryń.

Poniższy rysunek ilustruje jedną z możliwych struktur rezonansowych porfiry.



Rys. 2. Przykładowa struktura porfiry (jedna z możliwych struktur rezonansowych). Kolorem niebieskim zaznaczono położenia mostków metinowych, kolorem czarnym pierścieni pirolowych.

Równolegle obok siebie funkcjonują dwa rodzaje nomenklatury porfiry: nazewnictwo zgodne z założeniami podanymi przez Fischera (Fisher i inni 1934-1940) oraz według IUPAC.



Rys. 3. Nomenklatura porfiry według: a) IUPAC – A, B, C, D – pozycje pierścieni pirolowych, 1-20 położenie atomów węgla (5, 10, 15, 20 - pozycje mezo), 21-24 położenie atomów azotu; b) Fischera – I, II, III, IV - pozycje pierścieni pirolowych, 1-8 położenie atomów węgla (pozycje β), α , β , γ , δ – położenie atomów węgla (pozycje mezo).

Porfiryny to związki barwne, których gama kolorystyczna zmienia się od czerwieni po fiolet. Wykazują charakter amfoteryczny, co oznacza, iż w zależności od pH środowiska przeważa zasadowy charakter trójwartościowych atomów azotu pierścieni pirolowych bądź też obecność iminowych atomów wodoru o właściwościach kwasowych. Podstawowy pierścień porfirynowy przejawia właściwości hydrofobowe, które mogą być modyfikowane w kierunku zwiększenia hydrofilowości poprzez odpowiednie podstawienie. Porfiryne, będąca donorem elektronów, reaguje ze związkami wykazującymi ich deficyt. Ulega reakcjom substytucji elektrofilowej, gdzie dogodne miejsce ataku elektrofila stanowią pozycje mezo i β pierścienia. Cztery atomy azotu stanowiące wraz z dwoma iminowymi atomami wodoru centrum reakcyjne pierścienia umożliwiają tworzenie związków kompleksowych porfiryn z metalami. Zarówno podstawienie w obrębie pozycji mezo czy β , jak i kompleksowanie cząsteczki porfiryny jest przyczyną zmian jej właściwości fizykochemicznych, co umożliwia pozyskanie związków o różnorodnym charakterze.

Spora grupa porfiryn to związki amorficzne, które nie wykazują uprządkowania dalekiego zasięgu. Proces uzyskania pochodnych porfirynowych w postaci krystalicznej jest żmudny i zależy od swoistych cech danej próbki oraz warunków przeprowadzenia procesu krystalizacji.

2. ZAŁOŻENIA I CEL ROZPRAWY

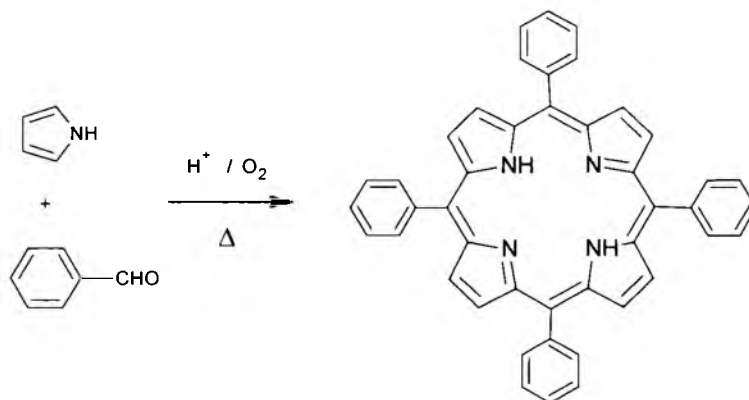
Założenia niniejszej rozprawy obejmują uzyskanie szeregu związków porfirynewych o potencjalnych właściwościach fotouczulających oraz charakterystykę ich wybranych parametrów fizykochemicznych istotnych z punktu widzenia PDT. W tym celu założono przeprowadzenie szeregu syntez oraz reakcji modyfikujących prowadzących do uzyskania ostatecznych produktów. Dla określenia czystości oraz potwierdzenia struktury cząsteczkowej wykonano badania metodami analizy instrumentalnej. W celu dobrego scharakteryzowania potencjalnych fotouczulaczy przeanalizowano ich struktury z wykorzystaniem metod rentgenowskich oraz spektroskopii w podczerwieni. Dla oszacowania potencjalnej użyteczności zsyntetyzowanych materiałów do zastosowań w terapii fotodynamicznej określono parametry fizykochemiczne bezpośrednio związane z medyczną aplikacją preparatów tj:

- położenie pasm absorpcji i emisji w zakresie widzialnym i ultrafiolecie,
- wyznaczenie molowych współczynników absorpcji,
- wyznaczenie kwantowej wydajności fluorescencji oraz kwantowej wydajności tlenu singletowego.

Spośród szerokiej gamy otrzymanych związków porfirynewych, do badań wybrano mezo-podstawione pochodne porfiryń, zawierające trzy podstawniki pirydylowe oraz jeden podstawnik fenyłowy modyfikowany odpowiednią grupą funkcyjną: eterową, estrową lub amidową. Dla części wspomnianych związków grupę funkcyjną wykorzystano do podłączenia do cząsteczki porfiryńy długiego łańcucha węglowego, który powinien umożliwić transport potencjalnego fotouczulacza do wnętrza komórki za pomocą nośników liposomowych. Pośród szeregu wyznaczonych do badań związków znalazła się także porfiryńa o czterech identycznych podstawnikach (tetrafenantrenoporfiryńa) stanowiąca związek modelowy do celów analizy rentgenostrukturalnej.

3. SYNTEZA MEZO-PODSTAWIONYCH POCHODNYCH PORFIRYN

Pierwsze publikacje dotyczące syntezy porfiryn sięgają 1935 roku (Rothemund 1935). Rothemund przeprowadził w temperaturze 150°C, w warunkach beztlenowych, reakcję pirolu z formaldehydem. Środowisko reakcji stanowił metanol z dodatkiem pirydyny, a wydajność porfiryny wynosiła 0.021%. Podobną reakcję przeprowadzili równolegle Fisher i Gleim (Fisher i Gleim 1935). W kolejnych latach ukazywały się prace, w których donoszono o wzroście wydajności reakcji otrzymywania porfiryny do 5% (Ball i inni 1946; Thomas i Martell 1956). W swoich opracowaniach Rothemund przedstawił grupę ponad 25 alifatycznych, aromatycznych i heterocyklicznych aldehydów, które w reakcji kondensacji z pirolem prowadziły do otrzymania porfiryn, niestety trudnych do wyodrębnienia z mieszaniny poreakcyjnej (Rothemund 1936, 1939; Krol 1959). Warunki syntez ulegały modyfikacjom w kierunku zwiększenia efektywności tworzenia porfiryn. Sposób oczyszczania i wyodrębniania związków także stanowił istotny aspekt w planowaniu toku syntezy tychże materiałów.



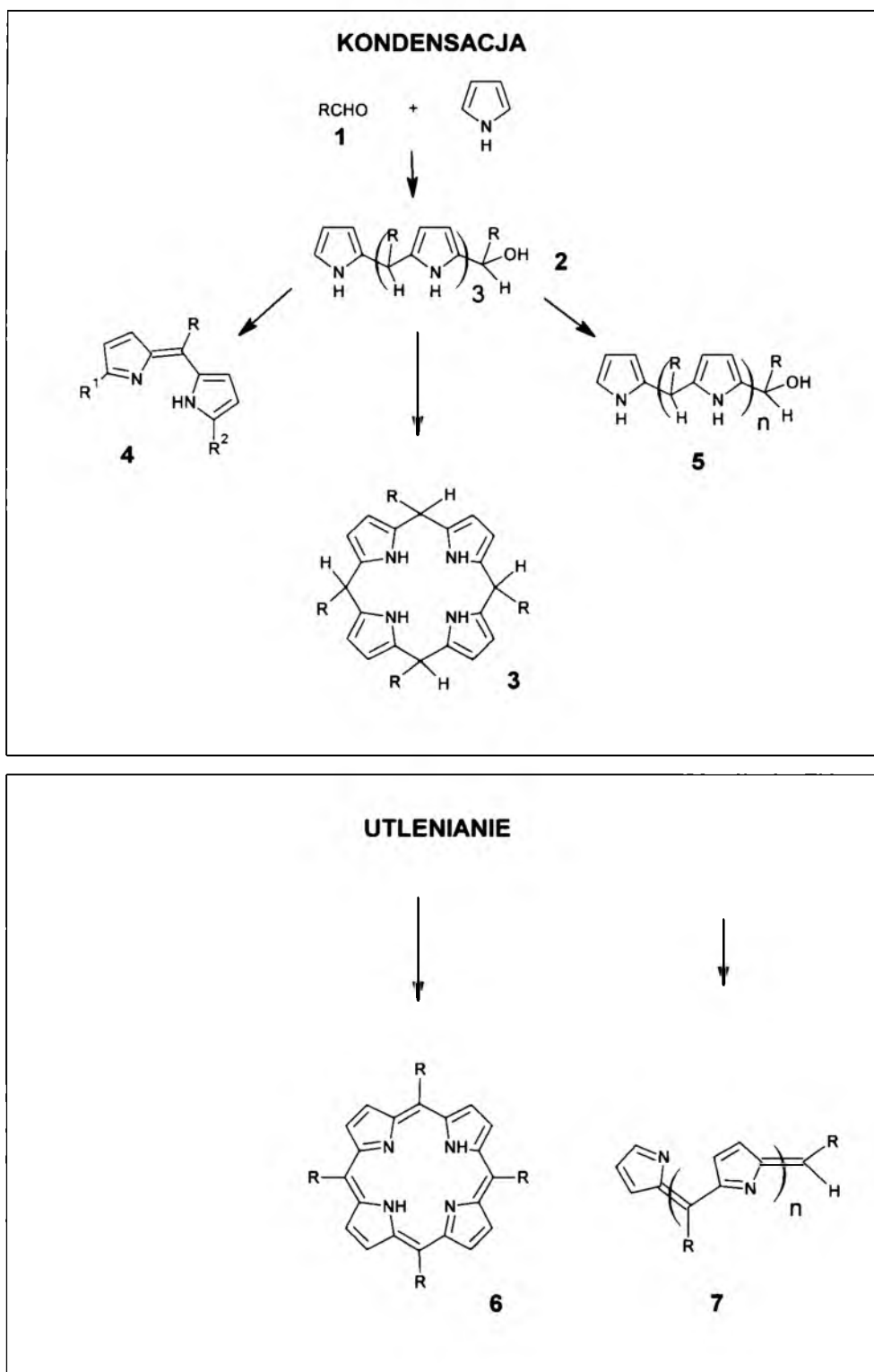
Rys. 4. Synteza tetrafenyloporfiryny metodą Adlera-Longo

W 1964 roku ukazała się praca Adlera A.D., Longo F.R. i Shergalisa W., w której została opisana synteza tetrafenyloporfiryny. Metoda stanowiła modyfikację reakcji Rothemunda, gdzie poddane działaniu wysokiej temperatury, w kwaśnym środowisku i warunkach tlenowych, kondensacji ulegały równomolowe ilości benzaldehydu z pirolem. W zależności od stosowanego rozpuszczalnika wydajność reakcji wynosiła 20% (kwas

propionowy) lub 35 - 40% (kwas octowy). Sposób zaproponowany przez Adlera i współpracowników umożliwiał uzyskanie szerokiego spektrum związków, niemniej jednak nie pozostawał bez wad. Drastyczne warunki reakcji nie pozwalały na otrzymywanie związków, których substraty były wrażliwe na wysokie temperatury, a proces oczyszczania (zwłaszcza w przypadku zastosowania kwasu octowego) często nastroczał problemów.

Problematykę techniki Adlera-Longo starał się rozwiązać Lindsey (Lindsey J.S 1987, 1989, 1994), który jednoetapową syntezę zastąpił dwustopniową reakcją prowadzoną w temperaturze pokojowej i w atmosferze ochronnej azotu. Pierwszy etap polegał na reakcji benzaldehydu z pirolem w dichlorometanie, gdzie produktem był tetramer, który w obecności katalizatora (BF_3 ; TFA) ulegał kondensacji do porfirynogenu. Drugi krok stanowiło utlenianie porfirynogenu do porfiryny poprzez dodanie p-chloranilu (lub DDQ) i ogrzanie mieszaniny do 39°C . Modyfikacja Lindseya, choć bardziej skomplikowana i czasochłonna umożliwiła zastosowanie w syntezie całej gamy aldehydów wrażliwych na wysokie temperatury, przy zachowaniu wydajności reakcji w granicach 30 - 40%. Jednym z istotniejszych elementów tej metody pozostaje fakt, iż przy założonej metodologii reakcji nie pojawiają się problemy z wyodrębnieniem związku z mieszaniny poreakcyjnej.

Na chwilę obecną zarówno metoda Adlera - Longo, jak i Lindseya są powszechnie stosowane w procesie otrzymywania pochodnych porfiryn. W celu uzyskania pochodnych porfiryn, opisanych w niniejszej rozprawie, autorka posłużyła się metodą Adlera - Longo.



Rys. 5. Etapy syntezy porfiryn metodą Lindseya (Lindsey) Kondensacja aldehydu (1) i pirolu prowadzi do pochodnej tetra(piolometanu) (2), który może być katalizowany do porfiryngenu (3) lub ulega dalszej polimeryzacji(4,5). W efekcie utlenienia otrzymywana jest z porfiryngenu porfiry (6), a grupa poli(piolometanu) ulega przekształceniu do poli(piolometenu) (7).

4. METODY OCZYSZCZANIA I ROZDZIELANIA PORFIRYN

Otrzymanie związku organicznego takiego jak pochodna porfiryny jest związane nie tylko z procesem syntezy, lecz niejednokrotnie z długotrwałą i trudną do przeprowadzenia procedurą oczyszczania. Wybór metody oczyszczania uzależniony jest zarówno od sposobu syntezy, jak i od samej natury otrzymanej próbki. W niniejszym opracowaniu skrótowo omówiono metody, które zostały zastosowane przez autorkę.

Jedną z szeroko stosowanych metod rozdziału jest ekstrakcja, wykorzystująca różnice w rozpuszczalności związków chemicznych w dwóch niemieszkających się cieczach. Ilościowo ekstrakcję opisuje prawo podziału Nernsta. Dużą popularnością cieszy się również krystalizacja, stosowana jako metoda oczyszczania związków stałych. Podstawę tej techniki stanowią różnice w rozpuszczalności substancji oczyszczanej i jej zanieczyszczeń w danym rozpuszczalniku lub mieszaninie rozpuszczalników.

Główną metodą oczyszczania jest chromatografia obejmująca szereg technik rozdziału różnorodnych substancji. Wspólną cechą wszystkich metod chromatograficznych jest zróżnicowany podział badanych substancji pomiędzy dwie fazy (ruchomą i nieruchomą). Metody chromatograficzne polegają na wychwytywaniu składników fazy ruchomej na fazie stacjonarnej, które uzależnione jest od budowy chemicznej obu faz. W przypadku pochodnych porfiryn istotne znaczenie ma chromatografia adsorpcyjna, gdzie fazę stacjonarną stanowi ciało stałe (najczęściej krzemionka lub tlenek glinu). Kształt fazy stacjonarnej determinuje podział metod chromatograficznych na chromatografię kolumnową (kolumna szklana) i planarną. W obrębie chromatografii planarnej wyróżniającą się techniką, w aspekcie zastosowania do oczyszczania i rozdziału związków porfiryńowych, jest chromatografia cienkowarstwowa (płytki szklane, aluminiowe lub z tworzywa sztucznego pokryte odpowiednim nośnikiem). Fazę ruchomą stanowią ciecze, najczęściej rozpuszczalniki organiczne. Zaadsorbowana mieszanina ulega rozdziałowi na poszczególne frakcje w skutek naprzemiennie występujących procesów adsorpcji i desorpcji. Zróżnicowane powinowactwo adsorpcyjne poszczególnych składników mieszaniny względem fazy stacjonarnej decyduje o szybkości ich migracji. Zróżnicowana prędkość wędrówki składników mieszaniny jest przyczyną rozdzielenia związków. Należy także zaznaczyć, iż migracja fazy ruchomej przez fazę stacjonarną w chromatografii cienkowarstwowej zachodzi na zasadzie sił kapilarnych, natomiast w przypadku chromatografii kolumnowej mamy do czynienia z metodą grawitacyjną. Chromatografia kolumnowa stosowana jest na skalę preparatywną, podczas gdy

cienkowsarstwowa zwykle wykorzystywana jest jako metoda doboru układu faz do właściwego rozdziału preparatywnego (Witkiewicz 1992).

5. IDENTYFIKACJA ZWIĄZKÓW Z WYKORZYSTANIEM METOD INSTRUMENTALNYCH

W celu potwierdzenia struktury uzyskanych w wyniku syntez związków powszechnie wykorzystywane są metody instrumentalne takie jak: spektrometria masowa oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego. Obie metody charakteryzują się możliwością uzyskania szybkiego wyniku, potwierdzającego nie tylko strukturę cząsteczkową badanej substancji, lecz również stopień jej czystości.

W spektrometrii masowej podstawę metody stanowi jonizacja badanego związku w wyniku, której następuje rozpad cząsteczki na fragmenty obdarzone ładunkiem, które zostają poddane pomiarowi stosunku masy do ładunku. Zastosowanie tzw. miękkich metod jonizacji jak np. jonizacja elektrosprejem (ESI – Electrospray Ionization), umożliwia w prosty sposób potwierdzenie masy cząsteczkowej badanej substancji. Uzyskiwany jon molekularny, powstały w skutek protonowania bądź utraty protonu pozwala na precyzyjne określenie masy cząsteczkowej związku (Johnstone 2001).

Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego pozwala na analizę struktury cząsteczkowej badanego związku. Metoda ta opiera się na zjawisku magnetyzmu jądrowego, gdzie obserwacji podlegają wymuszone, wskutek oddziaływania kwantów promieniowania z zakresu częstości radiowych, przejścia pomiędzy poziomami energetycznymi jąder. Do celów analizy materii organicznej najczęściej wykorzystywanymi jądrami magnetycznymi są protony (^1H) i jądra izotopu ^{13}C . W zależności od otoczenia chemicznego danego jądra zmianie ulega zakres częstości wzbudzenia, a sprzężenia pomiędzy poszczególnymi jądrami magnetycznymi implikują rozszczepianie sygnałów. Wszystko to umożliwia precyzyjne rozróżnienie sygnałów pochodzących od poszczególnych jąder lub grup jąder równocennych (Mazurkiewicz i inni 2000; Zieliński i Rajca 2000).

6. FIZYCZNE METODY BADANIA PORFIRYN

W badaniach struktury oraz właściwości fizykochemicznych porfiryn stosowane są różnorodne metody fizyczne. Szczególnie ważny jest szereg metod wykorzystujących zjawisko oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z materią, określanych wspólnym mianem spektroskopii. Szerokie spektrum promieniowania elektromagnetycznego, a także sposób i skutek oddziaływania promieniowania z badaną substancją, są przyczyną różnorodności metod spektroskopowych. W poniższym rozdziale przybliżone zostaną metody eksperymentalne, za pomocą których scharakteryzowano otrzymane pochodne porfiryn (Dolphin 1978 -1979; Paszyc 1992; Mazurkiewicz i inni 2000; Zieliński i Rajca 2000; Silverstein 2007)

6.1. SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE

Spektroskopia absorpcyjna UV/VIS jest metodą, gdzie następuje zmiana energii wewnętrznej próbki w wyniku pochłonięcia kwantu promieniowania z zakresu 100 nm – 800 nm. Zmianie ulega energia stanów rotacyjnych, oscylacyjnych jak i elektronowych cząsteczki, w związku z czym widmo UV/VIS w swej naturze ma charakter elektronowo-oscylacyjno-rotacyjny. Pełna analiza struktury pasm elektronowo – oscylacyjno - rotacyjnych możliwa jest tylko dla prostych cząsteczek w stanie gazowym. Dla bardziej skomplikowanych układów widmo UV/VIS składa się z wielu przejść pomiędzy leżącymi blisko siebie poziomami, w wyniku czego obserwuje się znaczne poszerzenie pasm oraz rozmycie struktury oscylacyjnej i rotacyjnej, tak że często jako jedyne możliwe do identyfikacji stają się przejścia pomiędzy stanami elektronowymi.

Dla związków organicznych absorpcja promieniowania z zakresu widzialnego i ultrafioletu wiąże się z przejściami elektronów walencyjnych, wiązań pojedynczych i wielokrotnych oraz elektronów wolnych par elektronowych. Zróżnicowanie energetyczne elektronów znajdujących się na określonych typach orbitali molekularnych powoduje wzbudzenia w różnych zakresach promieniowania, czego odzwierciedlenie można znaleźć w widmie absorpcyjnym. W zależności od rodzaju, ilości i układu wiązań wielokrotnych wchodzących w skład chromoforu (grupa atomów odpowiedzialna za pochłanianie

promieniowania) położenie pasm absorpcji ulega zmianie. Gdy do układu chromoforowego wprowadzony zostaje podstawnik to na skutek oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych mogą wystąpić modyfikacje pasm takie jak: zmiana ich intensywności czy położenia (grupy auksochromowe). Wzrost intensywności pasma przyjęto nazywać efektem hiperchromowym, natomiast zmniejszenie hipochromowym, podczas gdy ich przesunięcie w stronę fal dłuższych określa się jako przesunięcie batochromowe, natomiast w kierunku fal krótszych jako przesunięcie hipsochromowe. Dobór rozpuszczalnika ma także zasadniczy wpływ na położenie pasm absorpcji. Stwierdzono, iż zwiększona polarność środowiska powoduje przesunięcia hipsochromowe pasm powstałych wskutek wzbudzenia elektronu z orbitalu niewiążącego na orbital antywiązący ($n \rightarrow \pi^*$), podczas gdy pasma przejść pomiędzy orbitalami wiążącymi i antywiązącymi ($\pi \rightarrow \pi^*$) ulegają przeważnie przesunięciom batochromowym. Efekt ten nazwany został rozpuszczalnikowym i wykorzystywany jest w analizie przejść elektronowych.

Do scharakteryzowania wielkości zjawiska absorpcji stosuje się pojęcie transmitancji zdefiniowanej jako iloraz intensywności wiązki przechodzącej przez badaną substancję do intensywności wiązki na nią padającej, lub absorpcji stanowiącej logarytm naturalny z odwrotności transmitancji. Należy zaznaczyć, iż absorpcja jest wielkością addytywną. Związek absorpcji z ilością materii absorbującej opisuje prawo Lamberta -Beera.

$$A = \ln \frac{I_0}{I} = \epsilon c d \quad (1)$$

A – absorpcja,

I – intensywność wiązki przechodzącej,

I₀ – intensywność wiązki padającej

ε – molowy współczynnik absorpcji (parametr charakterystyczny dla danego związku, zależny od długości fali i stosowanego rozpuszczalnika),

c – stężenie molowe roztworu,

d – grubość warstwy absorbującej.

6.2. SPEKTROSKOPIA EMISYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE

W skutek absorpcji promieniowania z zakresu UV/VIS elektrony układu znajdujące się w stanie podstawowym ulegają wzbudzeniu. Czas życia wzbudzonych stanów

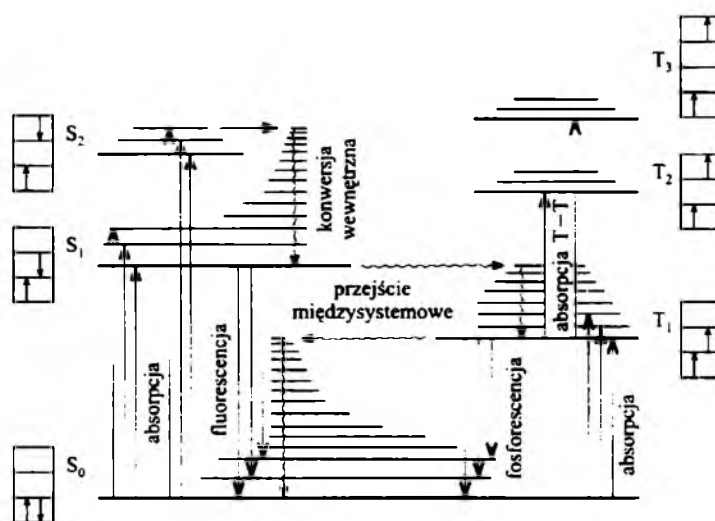
elektronowych nie jest długi. Molekuła powraca do stanu podstawowego, rozpraszając uprzednio nadmiar energii. Proces rozpraszania może zachodzić na wiele różnych sposobów, które można zasadniczo podzielić na przejścia promieniste oraz przejścia bezpromieniste.

W przypadku przejść bezpromienistych energia stanów wzbudzonych zostaje spożytkowana na energię ruchów translacyjnych, rotacyjnych i oscylacyjnych cząsteczki. W czasie przejść bezpromienistych zachodzić powinna konwersja wewnętrzna, przy której multipletowość molekuly nie ulega zmianie, jednakże ze względu na sprzężenie spin – orbita prawdopodobieństwo przejścia pomiędzy stanami o różnej krotności (przejście interkombinacyjne) jest różne od zera. Inaczej sytuacja przedstawia się dla przejść promienistych, gdzie energia stanów wzbudzonych zostaje wypromieniowana. Emisję fotonów, niezależną od promieniowania temperaturowego i charakteryzującą się skończonym czasem trwania nazywa się luminescencją. Gdy wzbudzenie układu następuje w skutek dostarczenia kwantów promieniowania z zakresu UV/VIS czy podczerwieni to zaistniała emisja promieniowania nosi nazwę fotoluminescencji. Na fotoluminescencję składają się procesy takie jak fluorescencja, fosforescencja czy fluorescencja opóźniona. Pod nazwą fluorescencji rozumie się przejście promieniste bez zmiany multipletowości, które następuje z zerowego poziomu oscylacyjnego pierwszego wzbudzonego stanu elektronowego na dowolny poziom oscylacyjno – rotacyjny stanu podstawowego. Takie zdefiniowanie fluorescencji zakłada, iż jedno przejście pomiędzy zerowymi poziomami oscylacyjno – rotacyjnymi stanu podstawowego i wzbudzonego powinno zarówno dla absorpcji jak i emisji wykazywać tę samą wartość energii. Jeżeli rozkład energii poziomów oscylacyjnych stanu podstawowego i pierwszego wzbudzonego jest jednakowy to można się spodziewać, iż widma absorpcji i emisji będą dla siebie niemal odbiciem lustrzanym. Niemniej jednak obserwuje się przesunięcie pasm emisji w stronę fal dłuższych w stosunku do widma absorpcji, co wynika z prawa Stokesa.

Gdy w trakcie przejścia elektronowego krotność stanu ulega zmianie wtedy mamy do czynienia z fosforescencją. Przejścia ze zmianą multipletowości są teoretycznie zabronione, jednakże, jak już wspomniano, zachodzą w wyniku sprzężenia spinowo – orbitalnego. Prawdopodobieństwo przejścia nie jest wysokie w związku z czym obserwowane pasmo absorpcji ma niską intensywność, podczas gdy czas życia emisji jest stosunkowo długi.

6.3. WIDMA ABSORPCJI I EMISJI PORFIRYN W ZAKRESIE UV/VIS

Widma absorpcji i emisji porfiryn są zdeterminowane przez obecność elektronów π układu sprzężonych wiązań makrocylu, do których swój wkład wnoszą elektrony pochodzące od podstawników. Podstawowym stanem elektronowym porfiryny jest stan o pojedynczej krotności, co oznacza, iż wszystkie elektrony w cząsteczce porfiryny są sparowane. W wyniku absorpcji kwantów promieniowania z zakresu widzialnego i ultrafioletu następuje wzbudzenie elektronów stanu podstawowego do stanów singletowych o wyższej energii. Możliwe jest także przejście międzysystemowe do stanu trypletowego, co przedstawia diagram energetyczny układu stanów singletowych i trypletowych zaproponowany przez Jabłońskiego.



Rys. 6. Schemat Jabłońskiego. Diagram energetyczny cząsteczki o układzie singletowych i trypletowych stanów elektronowych

Porfiryny zasadniczo charakteryzują dwa pasma absorpcji: intensywne pasmo Soreta ($B(0;0)$ - nomenklatura wg Platta 1956) położone przy około 420 nm i związane z przejściem elektronu do drugiego wzbudzonego stanu singletowego oraz pasmo Q występujące w zakresie od 500 nm do 650 nm. Długofalowe pasmo Q w przypadku porfiryn nie kompleksowanych, jest rozszczerzone na cztery składowe wynikające ze struktury oscylacyjnej stanu elektronowego. Mniejsza energia wzbudzenia niż dla pasma Soreta sugeruje, iż przejścia elektronowe występują pomiędzy stanem podstawowym, a pierwszym wzbudzonym stanem singletowym. Intensywności poszczególnych składowych pasma Q w zależności od pochodnej porfiryny mogą się różnić i zostały sklasyfikowane przez Sterna i

współpracowników (Stern 1935) jako *etio*, *rhodo* i *phyllo*.

Zjawisko fluorescencji dla porfiryn związane jest z przejściami elektronów z zerowego poziomu oscylacyjnego pierwszego wzbudzonego stanu elektronowego do odpowiedniego poziomu oscylacyjnego stanu podstawowego. Niekompleksowane porfiryny wykazują silną fluorescencję w zakresach około 600 nm – 700 nm. Odwrotnie sytuacja wygląda w przypadku zjawiska fosforescencji, gdzie dla związków nie posiadających w centrum pierścienia ciężkiego atomu intensywność emisji jest bardzo mała. Efekt zewnętrznego ciężkiego atomu powoduje wzmocnienie fosforescencji, którą obserwuje się w długofalowym zakresie 750 nm – 900 nm.

Z punktu widzenia zastosowań porfiryn w medycynie, istotnymi procesami rozproszeniowymi, są zarówno przejścia promieniste jak i bezpromieniste. Fotoluminescencja pozwala wyznaczyć optymalną długość fali ekscytacji fotouczulacza, a także zakres detekcji fluorescencji stanowiący zasadniczy element diagnostyki fotodynamicznej. Istotne są przejścia interkombinacyjne umożliwiające transfer energii pomiędzy porfiryń w stanie trypletowym, a tlenem cząsteczkowym, zapoczątkowującym cykl procesów prowadzących do śmierci chorej komórki.

6.4. SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI

Zakres promieniowania elektromagnetycznego pomiędzy światłem widzialnym, a falami radiowymi (0.7 – 50 μm) nosi nazwę podczerwieni. Istotny z punktu widzenia analizy związków organicznych obszar obejmuje podczerwień bliską (0.7 - 2.5 μm), właściwą (2.5 - 14.3 μm) oraz daleką (14.3 – 50 μm). Wartość przedziału częstości promieniowania podczerwonego jest zbliżona do częstości drgań atomów w cząsteczkach. W wyniku oddziaływania wspomnianego promieniowania z materią może nastąpić zmiana energii oscylacyjnej i rotacyjnej molekuł. Pochłonięcie kwantu promieniowania o energii z zakresu podczerwieni powoduje przejścia pomiędzy stanami oscylacyjnymi cząsteczki, co teoretycznie przedstawia się za pomocą modelu oscylatora anharmonicznego. Warunkiem koniecznym absorpcji promieniowania jest zmiana momentu dipolowego w czasie drgania opisywana przez moment przejścia.

Dla cząsteczek w stanie gazowym możliwa jest odrębna rejestracja przejść oscylacyjnych i rotacyjnych, a powstałe widmo jest w swej naturze widmem oscylacyjno –

rotacyjnym. W fazie skondensowanej w skutek oddziaływań międzycząsteczkowych następuje zahamowanie rotacji. Wzbudzenia rotacyjne mające energię do dwóch rzędów mniejszą od energii wzbudzeń oscylacyjnych, wpływają jedynie na poszerzenie pasm absorpcji obserwowanego widma.

W wyniku absorpcji promieniowania podczerwonego następują drgania wszystkich atomów cząsteczki. Zmianie ulegają długości wiązań oraz wartości kątów pomiędzy nimi. Zasadniczo drgania możemy podzielić ze względu na symetrię na symetryczne i asymetryczne. Ze względu na formę wyróżniamy drgania rozciągające oraz deformacyjne. Zmiana wartości energii stanu oscylacyjnego o jeden powoduje obecność w widmie absorpcji tzw. tonów podstawowych. Gdy oscylacyjna liczba kwantowa zmienia się o więcej niż jeden pojawiają się nadtony o mniejszej intensywności niż tony podstawowe. Możliwe jest także uzyskanie pasm kombinacyjnych. Drgają wszystkie atomy cząsteczki, jednakże częstości oscylacji pewnych zespołów atomów są tak intensywne, że wkład drgań od pozostałej części molekuly jest praktycznie znikomy. Drgania takie zostały nazwane grupowymi częstościami charakterystycznymi. Analiza widm związków zawierających te same grupy funkcyjne wykazała niezależność ich położenia od pozostałych atomów molekuly, co spowodowało, iż spektroskopia w podczerwieni stanowi doskonałe narzędzie w identyfikacji grup funkcyjnych oraz innych elementów szkieletu cząsteczki. Pozwala także, obok poznania struktury molekuł, na analizę ich oddziaływania z otoczeniem. Spektroskopia IR stosowana jest jako podstawowa metoda w badaniach wiązań wodorowych. [Flakus H.T. 1982, 2001]

6.5. WIDMA ABSORPCJI PORFIRYN W ZAKRESIE PODCZERWIENI

Pierwsze prace dotyczące badań widm podczerwonych porfiryn pojawiły się około 1950 roku. Sama porfiryra charakteryzuje się dużą liczbą drgań w zakresie od ponad 3300 do około 600 cm^{-1} . Najwyższe wartości częstości odpowiadają drganiom rozciągającym, spośród których największą wartość mają asymetryczne oscylacje grupy N-H. Drgania deformacyjne wymagają dostarczenia mniejszej energii, w związku z czym dają pasma absorpcji położone przy wyższych długościach fali. Najbardziej długofalowy zakres widma absorpcji porfiryn odpowiada oscylacjom poza płaszczyzną pierścienia.

Obecność podstawników w cząsteczce porfiryny komplikuje widmo podczerwieni, powiększając liczbę drgań nie tylko o częstości charakterystyczne wynikające z substytucji, lecz także o pasma drgań kombinacyjnych. Zestawienie wybranych zakresów częstości dla cząsteczki porfiryny przedstawiono w Tabeli 1.

Grupa atomów	Zakresy częstości drgań [cm ⁻¹]			
N-H	3310-3326		975-990	675-700
C _m -H	3077-3125	3025-3062	1210-1235	830-850
C _β -H	3076-3150	3025-3062	1065-1045	772-805

Tab. 1. Przykładowe częstości drgań porfiryn (Dolphin v.III 1978)

6.6. LASEROWA FOTOLIZA BŁYSKOWA

Pod nazwą fotoliza rozumie się reakcję dysocjacji elektrolitycznej danego związku, zachodzącą na skutek oddziaływania próbki z fotonami. Laserowa fotoliza błyskowa umożliwia badania kinetyki i mechanizmów reakcji szybkich. Dzięki tej technice możliwe jest między innymi uzyskiwanie i badanie wolnych atomów, rodników czy nietrwałych produktów przejściowych reakcji. Pomiar polega na poddaniu układu działaniu kilkunanosekundowego impulsu lasera, a następnie obserwacji zmian zachodzących w tymże układzie. Metoda ta oprócz badania fotodysocjacji daje także możliwość analizy przebiegu procesów fotofizycznych takich jak zanik czy powstawanie stanów trypletowych bądź singletowych molekuł. Pozwala także na rejestrację absorpcji czy emisji promieniowania, przy założeniu odpowiedniej rozdzielczości czasowej detekcji zaistniałych reakcji, czego przykład stanowi pomiar charakterystycznej emisji tlenu singletowego przy około 1280 nm, który umożliwia wyznaczenie kwantowej wydajności tlenu singletowego. Wyznaczona tą metodą wartość efektywności generowania ¹O₂ jest wartością względną, co oznacza, iż niezbędna jest obecność substancji wzorcowej o znanej wartości wydajności (Paszyc 1992; Karocki i inni 2009).

7. ODDZIAŁYWANIE PROMIENIOWANIA RENTGENOWSKIEGO Z MATERIAŁ

Promieniowanie rentgenowskie to promieniowanie elektromagnetyczne znajdujące się w obszarze widmowym pomiędzy promieniami γ , a nadfioletem. Oddziaływanie promieniowania X z materiałem może prowadzić do wielu procesów. Padające na próbkę promienie Roentgena mogą doprowadzić do wybicia elektronu z poziomu rdzeniowego (efekt fotoelektryczny) lub emisji promieniowania, będącego skutkiem relaksacji wzbudzonego kwantami promieniowania X elektronu, wtedy mamy do czynienia z fluorescencją. Możliwe jest też zjawisko rozpraszania, które może zachodzić w sposób spójny lub niespójny. Jeżeli w wyniku oddziaływania z ośrodkiem materialnym obserwuje się zmianę długości fali w stosunku do fali padającej to następuje zjawisko niespójnego rozpraszania zwane rozpraszaniem Comptona. Gdy wprowadzone w ruch przez składową elektryczną promieniowania drgające atomy emitują promieniowanie o częstotliwości równej częstotliwości promieniowania padającego mówimy wtedy o rozpraszaniu Rayleigha. Koherentne rozpraszanie Rayleigha rozchodzi się we wszystkich kierunkach i może ulegać zjawisku interferencji. Stanowi ono podstawę strukturalnej analizy rentgenowskiej. W metodach opartych na dyfrakcji, warunkiem koniecznym jest porównywalna wartość długości fali promieniowania użytego w eksperymencie w stosunku do odległości międzyatomowych. Wykorzystywany zakres długości fal promieni X to 0.2 - 2.5 Å (Meerssche i Feneau – Dupont 1984; Kittel 1999).

W związku z faktem, iż w niniejszej rozprawie przedstawione zostały badania oparte na procesach spójnego rozpraszania promieni X, w dalszej części opracowania zamieszczone zostały podstawowe pojęcia związane z tym procesem wykorzystywane w eksperymentalnej części pracy (Warren 1969; Champeney 1973; Cowley 1975).

Ponieważ otrzymane związki nie wykazują uporządkowania dalekiego zasięgu, w kolejnym podrozdziale zostaną przedstawione zagadnienia dotyczące rozpraszania promieniowania rentgenowskiego przez materiały amorficzne.

7.1. ROZPRASZANIE PRZEZ MATERIAŁ NIEUPORZĄDKOWANY

Obraz dyfrakcyjny materiału amorficznego znacząco różni się od obrazu dyfrakcyjnego kryształu. Nie obserwujemy tu motywu powtarzającego się w przestrzeni trójwymiarowej. Próbkę amorficzną charakteryzuje brak uporządkowania dalekiego zasięgu. Obraz dyfrakcyjny takiego materiału niekryształicznego składa się co najwyżej z kilku rozmytych pierścieni, rejestrowanych w płaszczyźnie normalnej do kierunku wiązki padającej. Charakter dyfraktogramu dla próbki amorficznej pozwala jedynie na uzyskanie informacji o uporządkowanych obszarach materiału poprzez wyznaczenie funkcji radialnego rozkładu, która jest funkcją odległości atomów. Amplitudę fali rozproszonej możemy przedstawić podobnie jak dla kryształu, z tą różnicą, iż w przypadku materiału amorficznego nie definiujemy wektorów sieci odwrotnej, a jedynie wektory rozpraszania \bar{Q} (Klug i Alexander 1974; Wagner 1978).

$$F(\bar{Q}) = \sum_m f_m \exp i \bar{Q} \bar{r}_m \quad (2)$$

$$2\pi \bar{H} = \bar{Q} \quad (3)$$

$F(\bar{Q})$	<i>amplituda fali rozproszonej</i>
f_m	<i>amplituda atomowa</i>
\bar{Q}	<i>wektor rozpraszania</i>
\bar{r}_m	<i>wektor opisujący położenie atomu</i>
\bar{H}	<i>wektor sieci odwrotnej</i>

Natężenie fali rozproszonej w przypadku materiałów amorficznych opisywane jest poprzez równanie Debay'a (4):

$$I = \sum_{m=1}^N \sum_{n=1}^N (f_m f_n^* \sin Q r_{mn}) / Q r_{mn} \quad (4)$$

Formuła 5 przedstawia całkowite natężenie fali rozproszonej, gdzie uwzględnione zostały przyczyniki pochodzące od natężenia wysokokątowego odpowiadającego za korelacje atomowe oraz natężenia niskokątowego, którego nie jesteśmy w stanie zarejestrować w trakcie standardowego pomiaru dyfrakcyjnego.

$$I = \sum_{m=1}^N N_m \sum_{n=1}^N f_m f_n^* \int_0^{\infty} 4\pi r^2 [\rho_{mn}(r) - \rho_{0n}] \frac{\sin(Qr_{mn})}{Qr_{mn}} dr \quad (5)$$

N_m liczba atomów rodzaju m

$4\pi r^2 \rho_{mn}(r) dr$ liczba atomów n leżących w odległości r od atomu rodzaju m , w sferze o promieniu r i szerokości dr

Czynnik struktury $S(Q)$ oraz jego związek ze zredukowanym natężeniem $i(Q)$ (natężenie przypadające na jeden atom) przedstawia się następująco:

$$S(Q) = \frac{I(Q) - (\langle f^2 \rangle - \langle f \rangle^2)}{\langle f \rangle^2} = \frac{I(Q) - \langle f^2 \rangle}{\langle f \rangle^2} + 1 = \frac{i(Q)}{\langle f \rangle^2} + 1 \quad (6)$$

$$\langle f \rangle = \sum_{m=1}^N C_m f_m$$

Wyznaczenie teoretycznej wartości czynnika struktury (np. w oparciu o dane symulacyjne) jest możliwe poprzez zastosowanie formuły 7:

$$S(Q) = 1 + \left[\frac{1}{N} \sum_m^N \sum_n^N \frac{f_m f_n}{\langle f \rangle^2} \frac{\sin(Qr_{mn})}{Qr_{mn}} \exp(-Q^2 \sigma_{mn}^2 / 2) \right]_{m \neq n} \quad (7)$$

Powiązanie czynnika struktury dostępnego z eksperymentu z funkcją korelacji par atomów (PCF) daną przez formułę $4\pi r [\rho(r) - \rho_0]$ przedstawia równanie 8.

$$4\pi r[\rho(r) - \rho_0] = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty \frac{Q i(Q)}{\langle f \rangle^2} \sin(Qr) dQ = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty Q[S(Q) - 1] \sin(Qr) dQ \quad (8)$$

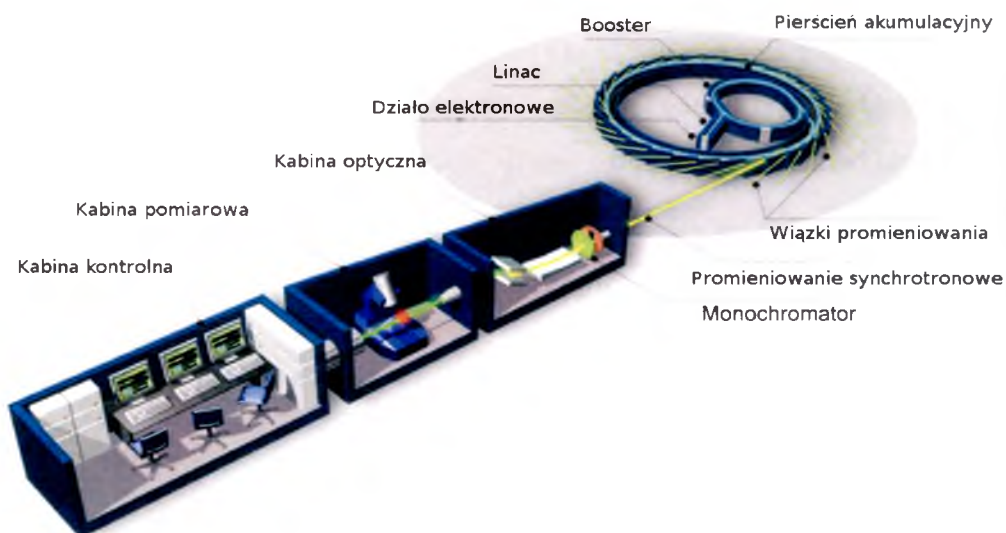
Funkcja korelacji par atomów jest miarą prawdopodobieństwa znalezienia konkretnego atomu w danej odległości od innego atomu, co pozwala na uzyskanie informacji o stopniu uprządkowania badanego materiału.

Należy pamiętać, iż rzeczywiste pomiary dyfrakcyjne odbywają się w ograniczonym zakresie wektora rozpraszania, z maksymalną wartością określoną przez Q_{max} . Zbieżność funkcji podcałkowej zapewnia zastosowanie funkcji Lorch: $\frac{\sin(\pi Q / Q_{max})}{\pi Q / Q_{max}}$, tak że wyrażenie ostatecznie *formuły 8* przyjmuje postać:

$$4\pi r[\rho(r) - \rho_0] = \frac{2}{\pi} \int_0^{Q_{max}} Q[S(Q) - 1] \frac{\sin(\pi Q / Q_{max})}{\pi Q / Q_{max}} \sin(Qr) dQ \quad (9)$$

7.2. PROMIENIOWANIE SYNCHROTRONOWE

Promieniowanie synchrotronowe to promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez naładowane cząstki (elektrony względnie pozytrony) poruszające się w polu magnetycznym z prędkościami zbliżonymi do relatywistycznych. Promieniowanie synchrotronowe uzyskujemy w pierścieniach akumulacyjnych, na skutek zakrzywienia toru ruchu cząstek (Oleś 1998; Mülhaupt i Rüffer 1999). Przyspieszone w tzw. boosterze cząstki trafiają do pierścienia akumulacyjnego, gdzie następnie utrzymywane są w ruchu po okręgu dzięki zastosowaniu elektromagnesów. Zakrzywienie toru ruchu cząstek, zgodnie z zasadami mechaniki klasycznej powoduje emisję promieniowania, zwanego potocznie synchrotronowym. Kwadrupolowe soczewki magnetyczne odpowiadają za ogniskowanie wiązki elektronów. Specjalne typy tzw. wingglerów i undulatorów wymuszają dodatkowe oscylacje cząstek, co powoduje zwiększenie natężenia wiązki nawet o kilka rzędów wielkości, w stosunku do natężenia wiązki powstałej w skutek działania zwykłych magnesów zakrzywiających. W odpowiednio przygotowanych miejscach pierścienia akumulacyjnego znajdują się wyprowadzania wiązek do stanowisk pomiarowych.



Rys. 7. Schemat przykładowej linii pomiarowej synchrotronu (www.synchrotron-soleil.fr/images)

Synchrotron daje możliwość uzyskania ciągłego zakresu widma w granicach od podczerwieni po twarde promieniowanie rentgenowskie. Istotne atuty promieniowania synchrotronowego stanowią także: silna kolimacja wiązki i wysoka jasność strumienia fotonów. Uzyskiwana wiązka fotonów jest liniowo spolaryzowana w płaszczyźnie stycznej do toru ruchu cząstek (kołowo lub eliptycznie poza kierunkiem wyznaczonym przez styczną). Dzięki zastosowaniu układów optycznych mamy możliwość uzyskania promieniowania ściśle monochromatycznego. Wszystkie wspomniane cechy promieniowania synchrotronowego pozwalają na studiowanie właściwości materiałów, dla których standardowe źródła promieni X generują zbyt małe natężenie (Kohara i Suzuya 2003; Kisiel A 2006).

7.3. EUROPEJSKIE CENTRUM PROMIENIOWANIA SYNCHROTRONOWEGO - EUROPEAN SYNCHROTRON RADIATION FACILITY



Rys. 8. Pierścień akumulacyjny w European Synchrotron Radiation Facility w Grenoble(www.esrf.eu)

W European Synchrotron Radiation Facility, w Grenoble znajduje się synchrotron III-generacji (Kunz 2001), o obwodzie pierścienia akumulacyjnego 844.4 m, do którego trafiają elektrony o energii 6 GeV. Cząstki utrzymywane są na stacjonarnej orbicie kołowej przez liczbę 64 magnesów zakrzywiających, a ich wiązka ogniskowana jest przez system 320 soczewek magnetycznych. Z pierścienia akumulacyjnego wyprowadzonych jest 49 linii pomiarowych, z których każda wyposażona jest w dodatkową aparaturę odpowiednią dla profilu prowadzonego eksperymentu.

8. METODY OBLICZENIOWE

Dzięki rozwojowi metod obliczeniowych fizyki i chemii teoretycznej możliwe jest przewidywanie parametrów fizykochemicznych cząsteczek. Można określić struktury pojedynczych molekuł, jak i całych ich układów (np. uporządkowanie w obrębie sieci krystalicznej), oszacować energię cząsteczki lub energię oddziaływań międzycząsteczkowych. Współczesne techniki modelowania komputerowego pozwalają wyznaczać ładunki i momenty dipolowe, symulować reakcje chemiczne. Możemy prognozować różnorodne właściwości spektroskopowe, uzyskiwać teoretyczne widma podczerwieni czy Ramana.

Istnieje wiele metod obliczeniowych, pozwalających na wyodrębnienie interesujących nas parametrów danego układu. Możliwe jest modelowanie z wykorzystaniem mechaniki klasycznej pozwalające na optymalizację energii (Mechanika Molekularna) czy symulowanie dynamiki układów (Dynamika Molekularna). Popularną grupę metod obliczeniowych stanowią techniki oparte na teorii kwantów.

W obrębie mechaniki kwantowej podstawową metodą jest bazująca na funkcji falowej metoda Hartree - Focka. W technice tej układ N - elektronowy opisywany jest przez $4N$ -wymiarową funkcję współrzędnych położenia i spinu, którą wyznacza się w oparciu o model cząstek niezależnych. Zakłada się funkcję układu wieloelektronowego w postaci wyznacznika Slatera funkcji jednoelektronowych, konstruuje operator Hamiltona, a następnie wyznacza jego wartość oczekiwaną. W metodzie Hartree-Focka poszukiwana jest taka postać wyznacznika, która da najmniejszą wartość średnią hamiltonianu. Minimalizuje się funkcjonal energii poprzez wariację orbitali, co prowadzi do układu całkowo - różniczkowych równań Hartree - Focka. Równania te mają pozorną postać równań Schrödingera z operatorem Focka i rozwiązuje się je metodą iteracyjną. Zakłada się początkową postać orbitali, konstruuje operator Focka, który podstawia się do układu równań. W wyniku obliczeń uzyskuje się nową postać orbitali, które w kolejnym przybliżeniu służą do utworzenia nowego operatora Focka i obliczenia orbitali. Procedura powtarzana jest, aż do momentu samouzgodnienia orbitali.

Niestety metoda Hartree - Focka ma ograniczone zastosowanie ze względów praktycznych. Wraz z rozmiarami układu (liczba atomów) znacząco rośnie czas obliczeń. Problemатyczne jest także uwzględnienie korelacji elektronowych, które zostały wykluczone wraz z zastosowaniem przybliżenia jednoelektronowego.

Metodami post hartree - fockowskimi bazującymi na funkcji falowej, ale uwzględniającymi korelacje elektronowe są np.: metoda oddziaływania konfiguracji (CI), sprzężonych klasterów (CC), czy oparta na rachunku zaburzeń metoda Moellera - Plesseta (MP). Dają one lepsze wyniki niż Hartree - Fock, lecz są bardziej wymagające. Stosunkowo niewielki koszt obliczeń charakteryzuje metody półempiryczne. Podstawą jest formalizm Hartree - Focka, który upraszcza się przez założenie, że elektrony znajdujące się na atomowych orbitalach walencyjnych jako jedyne mają przyczynek do tworzenia wiązań. Stosuje się tu parametryzację z wykorzystaniem danych eksperymentalnych. Metody te znajdują zastosowanie w obliczeniach dużych układów, jednakże parametryzacja bywa kłopotliwa i może prowadzić do wyników obarczonych dużym błędem. Powszechnie stosowane są metody kwantowych obliczeń oparte na Teorii Funkcjonałów Gęstości. Dają one możliwość uzyskania, przy jednakowym koszcie obliczeń w stosunku do metody Hartree - Focka, większej dokładności wynikającej z uwzględnienia korelacji elektronowej. Pozwalają one na symulacje parametrów dla układów do około kilkuset atomów (Johnson i inni 1993; Khein i Asheroft 1997; Nalewajski 2001; Pielą 2003).

8.1. TEORIA FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI

Metody obliczeniowe wykorzystujące Teorię Funkcjonałów Gęstości (Density Functional Theory - DFT) stanowią alternatywę w stosunku do metod bazujących na równaniu Hartree - Focka. Metoda DFT zakłada zastąpienie $4N$ wymiarowej funkcji falowej współrzędnych położenia i spinów, przez funkcję gęstości elektronowej opisaną w przestrzeni trójwymiarowej. Technika ta opiera się na twierdzeniu Hohenberga - Kohna, które zakłada, iż każdą obserwabłą można przedstawić jako funkcjonal gęstości elektronowej stanu podstawowego (Hohenberg P., Kohn W, 1964). Inaczej mówiąc: gęstość elektronowa stanu podstawowego jak i jego funkcja falowa mogą być używane zamiennie do całkowitego opisu stanu podstawowego układu. Z drugiego twierdzenia Hohenberga - Kohna wynika, że minimum energii występuje dla rzeczywistej gęstości elektronowej stanu podstawowego.

$$\rho(\vec{r}) = N \sum_{\sigma_1=-1/2}^{1/2} \int d\tau_2 d\tau_3 \dots d\tau_N |\Psi(\vec{r}_1, \sigma_1, \vec{r}_2, \sigma_2, \dots, \vec{r}_N, \sigma_N)|^2 \quad (10)$$

Praktyczną realizację obliczeń bazujących na teorii funkcjonałów gęstości podali Kohn i Sham (Kohn W., Sham L.J., 1965), którzy zaproponowali koncepcję układu fikcyjnych elektronów wzajemnie nieoddziaływujących, poruszających się w zewnętrznym potencjale, tak skonstruowanym, aby pozwalał na uzyskanie gęstości elektronowej zbliżonej do gęstości stanu podstawowego układu rzeczywistego. Energię całkowitą w ujęciu Kohna – Shama przedstawia poniższe równanie:

$$E = T_0[\rho] + V[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (11)$$

$T_0[\rho]$	<i>energia kinetyczna nieoddziaływujących elektronów układu</i>
$V[\rho]$	<i>energia potencjalna oddziaływania elektronów z jądrami</i>
$J[\rho]$	<i>coulombowskie oddziaływanie elektronów ze sobą</i>
$E_{xc}[\rho]$	<i>energia korelacyjno – wymienna</i>

Funkcjonał korelacyjno – wymienny $E_{xc}[\rho]$ zawiera przyczynki do oddziaływań pominiętych w poprzednich członach powyższego równania. Obejmuje poprawkę na energię kinetyczną i część wymienną. Jest odpowiedzialny za korelacje elektronowe wynikające z oddziaływania elektronów samych ze sobą. Natomiast tzw. potencjał Kohna – Shama (V_0), składa się z oddziaływania elektronów z jądrami (V), coulombowskiego oddziaływania pomiędzy elektronami (V_{coul}) oraz członu korelacyjno – wymiennego (V_{xc}).

$$\hat{V}_0 = V + \hat{V}_{coul} + \hat{V}_{xc} \quad (12)$$

$$\hat{V}_{xc} = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho} \quad (13)$$

Możliwe jest zastosowanie formalizmu Kohna - Shama z polaryzacją spinową, gdzie rozpatrywane odrębnie są dwa nieoddziaływające układy elektronów, z których każdy charakteryzowany jest przez funkcję spinową α lub β tak, że: $\rho = \rho_\alpha + \rho_\beta$.

Dokładna postać funkcyjonału korelacyjno – wymiennego (a co za tym idzie potencjału korelacyjno – wymiennego) nie jest znana. W metodach DFT stosuje się kilka rodzajów przybliżeń. Przybliżenie lokalnej gęstości (LDA - Local Density Approximation) lub lokalnej gęstości spinowej (LSDA – Local Spin Density Approximation) zakłada, że lokalna

gęstość funkcyjna korelacyjno – wymiennego, zostaje określona jak dla jednorodnego gazu elektronowego. Gaz rzeczywisty nie jest jednorodny, lecz dla odpowiednio małej objętości można przyjąć, iż jednorodność tam występuje. Inne przybliżenia wychodzące poza LDA, LSDA zakładają istnienie nielokalności w zależności gęstości od członu korelacyjno – wymiennego. Podejście takie zostało nazwane przybliżeniem nielokalnym (NLDA – Non-Local Density Approximation). W danym punkcie przestrzeni wkład do energii korelacyjno – wymiennej może zależeć od sytuacji w innym obszarze, tzn od gradientu gęstości w innym miejscu (przybliżenie rozwinięcia gradientowego GEA- Gradient Expansion Approximation). Trzecim typem aproksymacji są funkcjonały hybrydowe, które stanowią mieszanę sparametryzowanych energii korelacyjno – wymiennych różnych metod. Przykład dla ostatniej grupy stanowi funkcjonał B3LYP (funkcjonał mieszany zawierający trzy parametry Becke’a i potencjał korelacyjny zaproponowanym przez Lee–Yang–Parr) (Bake A.D. 1988, 1993, Lee C., Yang W., Parr R.G. 1998):

$$E_{XC} = E_{XC}^{LSDA} + a_0 (E_X^{HF} - E_X^{LSDA}) + a_X E_X^{B88} + a_C E_C^{LYP} \quad (14)$$

E_{XC}^{LSDA}	<i>energia korelacyjno-wymienna LSDA</i>
E_X^{HF}	<i>energia wymienna Hartree-Focka</i>
E_X^{LSDA}	<i>energia wymienna LSDA</i>
E_X^{B88}	<i>energia wymienna Beckego (z poprawkami gradientowymi do LSDA)</i>
E_C^{LYP}	<i>energia korelacyjna Lee-Younga-Parra (poprawka do energii elektronowej Hartree-Focka)</i>
$a_0; a_X; a_C$	<i>parametry dopasowania</i>

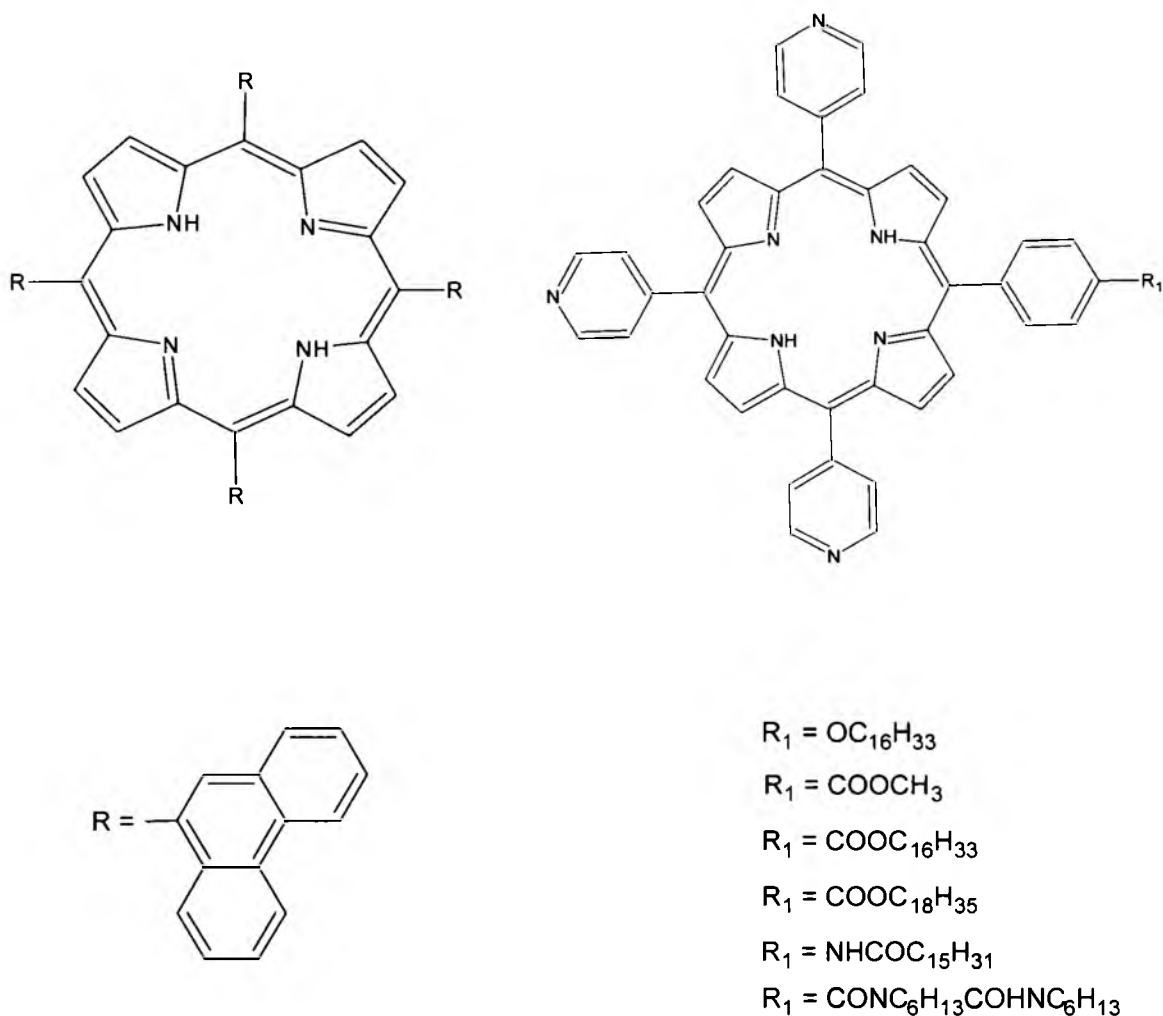
Funkcjonał B3LYP jest bardzo popularny za względu na dobrą zgodność wyników obliczeń z eksperymentem. Przybliżenie to szczególnie dobrze odwzorowuje parametry cząsteczek związków organicznych. W metodach opartych na modelu LDA, nawet tych z przybliżeniami gradientowymi obserwowano tendencję do zawyżania energii wiązań. Zastosowanie energii wymiennej Hartree - Focka w B3LYP ma na celu osłabienie energii wiązań aproksymacji LSDA. Poszczególne parametry dopasowania oznaczone przez a z odpowiednim indeksem (parametry Becke’a), stanowią o wadze danego przyczynku do całkowitego funkcyjna i wyznaczone są na drodze eksperymentu.

8.2. BAZY FUNKCYJNE

Istotnym elementem w modelowaniu komputerowym jest wybór bazy. Stanowi ona zbiór funkcji charakteryzujących orbitale atomowe, których kombinacje liniowe wyrażają postać orbitali molekularnych. Zasadniczo wyróżniamy dwa typy baz funkcyjnych: szybkozbieżne, lecz problematyczne w obliczeniach bazy Slatera (STO) (wykładnicza funkcja radialna) oraz bazy oparte na funkcji Gaussa (wykładnik w kwadracie). Orbitale gaussowskie (GTO), pomimo wolniejszej zbieżności reprezentacji orbitali molekularnych z rozmiarem bazy, są częściej używane. Charakteryzują je proste całki obliczane analitycznie. Gdy mamy do dyspozycji orbitale atomowe obsadzone w stanie podstawowym izolowanych atomów składających się na molekułę to mówimy o bazie minimalnej. Wszelkie dodatkowe funkcje wprowadzone do bazy powodują jej poszerzenie i mają na celu polepszenie odwzorowania stanu układu. Przykładowym typem bazy jest, zastosowana do osiągnięcia założeń niniejszej pracy, baza 6-31G* (Hehre i inni 1986). Jest to baza Gaussa, gdzie superpozycja sześciu funkcji Gaussa typu 1s jest używana do opisu orbitali powłok wewnętrznych. Elektrony powłok zewnętrznych opisywane są przez dwa skonstruktowane orbitale przypisane każdemu orbitalowi walencyjnemu. Pierwszy z nich zawiera trzy, a drugi jeden orbital GTO, stąd w symbolu liczba 31. Gwiazdka oznacza zastosowanie dodatkowo do opisu powłok walencyjnych funkcji polaryzacyjnej.

9. SYNTEZA POCHODNYCH TETRA-ARYLOPORFIRYN

Materiały będące przedmiotem niniejszej rozprawy możemy podzielić na dwie zasadnicze grupy ze względu na sposób ich otrzymania: związki uzyskane w wyniku syntez jednoetapowych lub porfiryny otrzymane poprzez wieloetapowe reakcje syntezy i modyfikacji podstawników. Do pierwszej grupy zaliczają się związki o podstawnikach fenantrenowym, heksadekanoksyfenylowym oraz metoksyfenylowym. Drugą grupę stanowi szereg związków, które bazując na związkach grupy pierwszej, przeprowadzano w bardziej złożone pochodne zawierające głównie długie łańcuchy alkilowe. Na *Rysunku 9* przedstawiono wzory strukturalne mezo – podstawionych pochodnych porfiryn, które otrzymano w ramach niniejszej pracy.



Rys 9. Wzory strukturalne syntetyzowanych porfiryn

9.1. SYNTEZY JEDNOETAPOWE

Pierwszą grupę związków stanowią porfiryne otrzymane w wyniku klasycznej reakcji kondensacji Adlera - Longo. W syntezie tej do aldehydu (aldehydów) umieszczonego w środowisku wrzącego kwasu propionowego, porcjami dodaje się pirol i ogrzewa od 0,5 do 2 godzin. Następnie mieszaninę poreakcyjną pozostawia się do oziębienia. Pozostawienie roztworu w temperaturze pokojowej przez kilkanaście godzin powinno spowodować strącenie osadu zawierającego porfiryne; nie jest to jednak regułą. W przypadku strącenia osadu, stosuje się sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera. Uzyskany osad przemywa się metanolem, a następnie oczyszcza chromatograficznie lub poprzez krystalizację. Dla wszystkich związków zawierających podstawniki pirydylowe nie zaobserwowano wytrącenia się osadu z mieszaniny poreakcyjnej, nawet po oddestylowaniu nadmiaru kwasu propionowego. Resztę kwasu propionowego zobojętniano przy użyciu kwaśnego węglanu sodu. Pozostałą mieszaninę ekstrahowano układem rozpuszczalników woda - dichlorometan. Warstwa wodna została usunięta, a jej pozostałości w warstwie dichlorometanowej pozbyto się za pomocą bezwodnego siarczanu (VI) magnezu. Z osuszonego roztworu odparowywano dichlorometan w celu pozyskania produktów reakcji w stałym stanie skupienia. W zależności od liczby aldehydów użytych w reakcji kondensacji otrzymywano odpowiednią liczbę porfiryne. W przeprowadzonych syntezach stosowano jeden lub dwa różne aldehydy, co dawało odpowiednio jeden związek lub mieszaninę sześciu, różniących się ilościowym i przestrzennym rozmieszczeniem podstawników względem siebie. Właściwy produkt wydzielono poprzez zastosowanie metod adsorpcyjnej chromatografii kolumnowej, chromatografii cienkowarstwowej oraz metod krystalizacyjnych.

W wyniku przeprowadzenia syntezy jednoetapowej otrzymano następujące pochodne porfiryne: 5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryne, 5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryne oraz 5,10,15,20 -tetra-(9-fenantreno)porfiryne. Szczegółowe opisy syntez zostały zamieszczone poniżej. Wydajności reakcji syntezy obliczono względem substratu – pirolu.

A. 5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryne

Syntezę 5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryne przeprowadzono wg procedury zaproponowanej przez Yamamura T. (1981), przy zmodyfikowanej stechiometrii reakcji (Pasewicz A. 2004).

0,99g (2.86 mmola) 4-heksadekanoksybenzaldehydu, 2,15g (20 mmola) aldehydu 4-

pirydylowego i kwas propionowy (300 cm³) ogrzewano w kolbie okrągłodennej pod chłodnicą zwrotną. Po doprowadzeniu mieszaniny do temperatury wrzenia do kolby wprowadzono porcjami pirol (1,52g; 23 mmola) i ogrzewano całość przez 2 godziny, po czym pozostawiono mieszaninę do ostygnięcia. Kwas propionowy został usunięty po 24 godzinach w wyniku destylacji i zubożniania. Uzyskaną mieszaninę ekstrahowano układem faz woda - dichlorometan. Oddzieloną fazę organiczną suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu. Analiza składników mieszaniny metodą chromatografii cienkowarstwowej umożliwiła stwierdzenie obecności sześciu różnych porfiryn. Uzyskanie właściwego produktu osiągnięto poprzez zastosowanie metod adsorpcyjnej chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej oraz technik krystalizacyjnych. W pierwszej kolejności przeprowadzono filtrację z wykorzystaniem tlenku glinu jako fazy stacjonarnej, eluent stanowił chloroform, a następnie jego mieszanina 2:1 z metanolem. Wstępnie oczyszczoną z innych zanieczyszczeń organicznych mieszaninę porfiryn rozdzielano z zastosowaniem żelu krzemionkowego jako wypełnienia kolumny chromatograficznej. Jako fazy ruchomej użyto chloroformu, a po zebraniu trzech pierwszych frakcji fazę ruchomą spolaryzowano poprzez dodanie octanu etylu. Ostatecznie założony związek uzyskano jako piątą z kolei frakcję (eluent – chloroform: octan etylu w stosunku objętościowym rozpuszczalników 2:1). Dodatkowo przeprowadzono krystalizację związku z układu rozpuszczalników chloroform - metanol. W wyniku przeprowadzonej procedury syntezy i oczyszczania otrzymano 65 mg 5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryny. (Wydajność reakcji wynosiła 12%).

B. 5-(4-metoksykarbonylofenylo)- 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna

Syntezę 5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny przeprowadzono z zastosowaniem procedury zaproponowanej przez Ishikawa Y. i współpracowników (2001). Aldehyd 4 – metoksykarbonylobezoesowy (3.28g; 0.02 mola) i aldehyd 4- pirydylowy (6.43g; 0.06 mola) umieszczono wraz z 300 cm³ kwasu propionowego w kolbie okrągłodennej i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną. Po uzyskaniu temperatury wrzenia mieszaniny, do kolby porcjami wprowadzono pirol (5.37g; 0.08 mola), a następnie ogrzewano całą mieszaninę przez 2 godziny. Po 24 h nadmiar kwasu propionowego oddestylowano, a pozostałość zubożniono kwaśnym węglanem sodu. Fazę organiczną pozyskano podobnie jak w powyżej opisanej procedurze. Mieszaninę porfiryn rozdzielono z zastosowaniem adsorpcyjnej chromatografii kolumnowej. Fazę do rozdziału dobrano z zastosowaniem chromatografii cienkowarstwowej. Optymalny układ do rozdziału stanowiły żel krzemionkowy (faza stacjonarna) oraz mieszanina chloroformu z metanolem (faza

ruchoma) w stosunku objętościowym 3:1. Właściwy związek otrzymano jako piątą z kolei frakcję. Uzyskano 64 mg 5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny z wydajnością reakcji 15%.

D. 5,10,15,20 -tetra-(9-fenantreno)porfiryna

Fenantreno-9-karboaldehyd (2g; 9.6 mmola) w środowisku kwasu propionowego (300 cm³) ogrzewano do wrzenia, a następnie dodano pirol (0.5g 9.6 mmola) porcjami i ogrzewano przez 2 godziny. Nadmiar kwasu propionowego oddestylowano. Po ochłodzeniu z roztworu wytrącił się fioletowy osad tetra-(9-fenantreno)porfiryny, który oddzielono za pomocą sączenia. Związek oczyszczano z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej, gdzie fazę stacjonarną stanowił tlenek glinu, natomiast fazę ruchomą mieszanina dichlorometanu z heksanem (2:1). Końcowy produkt krystalizowano z dichlorometanu. Ostatecznie uzyskano 146 mg 5,10,15,20 -tetra-(9-fenantreno)porfiryny. Wydajność reakcji wynosiła 6%.

9.2. SYNTEZY WIELOETAPOWE

Druga grupa związków to materiały uzyskane w wyniku modyfikacji podstawników porfiryn otrzymanych poprzez kondensację Adlera - Longo. Pierwszy etap reakcji przebiega podobnie jak dla związków uzyskiwanych w syntezach jednoetapowych. Pozyskane pochodne zawierają odpowiednie grupy funkcyjne metoksykarbonylofenylowe lub acetamidofenylowe. W drugiej fazie uzyskane związki przeprowadza się za pomocą odpowiednich reakcji w pochodne karboksyfenylowe i aminofenylowe, które w etapie trzecim sprzęga się z długimi łańcuchami alkilowymi. Szczegółowa procedura postępowania dla związków zaklasyfikowanych do grupy drugiej: (5-(4-oktadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna; 5-(4-heksadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna; 5-(4-palmitamidofenylo)-10,15,20-tri(4-pirydylo) - porfiryna została przedstawiona poniżej. Wydajności reakcji dla poszczególnych związków określone zostały względem substratów: w pierwszym etapie względem pirolu, natomiast w kolejnych etapach względem pochodnej porfiryny poddanej modyfikacjom.

A. 5-(4-oktadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna**B. 5-(4-heksadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna**

5-(4-oktadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna i 5-(4-heksadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna są związkami o takiej samej procedurze syntezy, różniącymi się jedynie długością łańcucha alkilowego. Oba związki otrzymano w wyniku sprzęgania 5-[4-karboksyfenylo] - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny, z długołańcuchowymi alkoholami. Procedurę uzyskania karboksylowej pochodnej porfiryny oraz zastosowane metody reakcji sprzęgania przedstawiono poniżej.

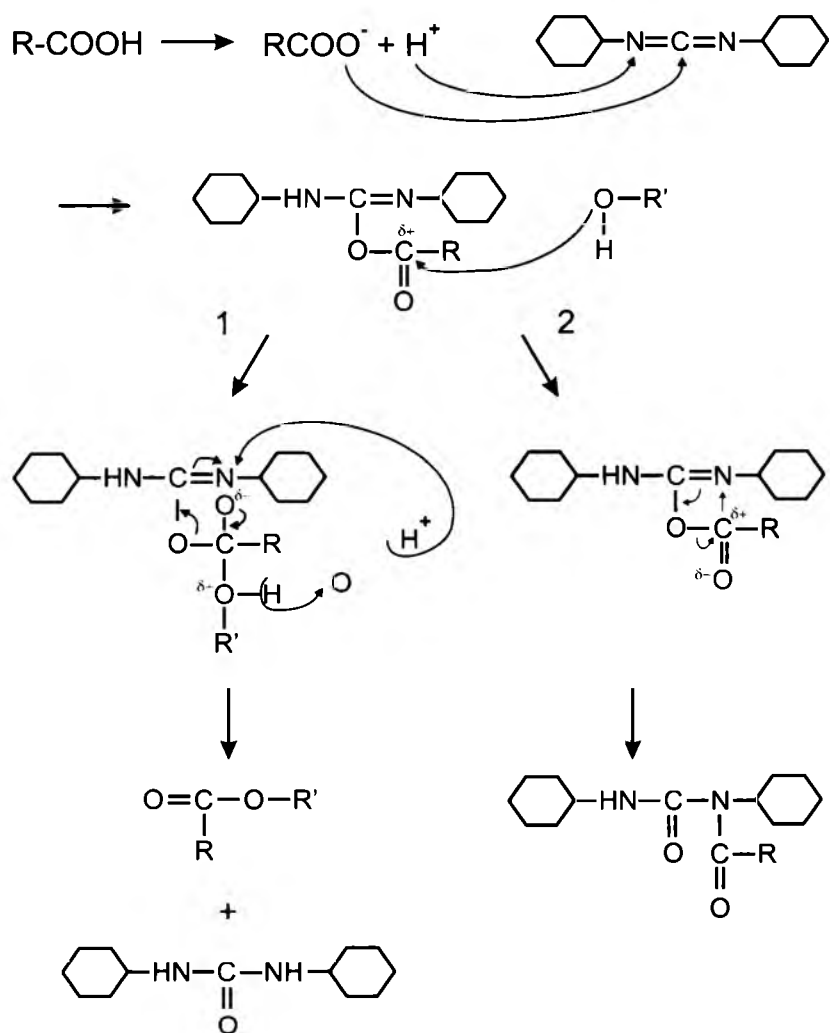
5-(4-karboksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna

W celu uzyskania 5-(4-karboksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny 5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryne (20 mg; 0.029 mmola) mieszano w DMF (dimetyloformamid, 20 cm³) w obecności wodorotlenku potasu (1 pastylka) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Nadmiar wodorotlenku potasu zneutralizowano roztworem kwasu solnego (5%). Mieszaninę ekstrahowano chloroformem. Fazę organiczną suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu i odparowywano do sucha. 5-(4-karboksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryne uzyskiwano w wyniku rozdziału na kolumnie chromatograficznej, gdzie fazę stacjonarną stanowił żel krzemionkowy, natomiast ruchomą mieszanina rozpuszczalników chloroform – metanol (2:1). Końcowy produkt był krystalizowany z mieszaniny chloroformu z metanolem. (Wydajność reakcji 85%.) Procedurę hydrolizy powtarzano wielokrotnie otrzymując produkt z podobnymi wydajnościami.

Sprzęganie kwasowej pochodnej porfiryny z alkoholami długołańcuchowymi przeprowadzono z wykorzystaniem odczynnika sprzęgającego DCC (N,N'-dicykloheksylokarbodiimid) w oparciu o procedurę zaproponowaną przez Haidekkera (Haidekker, 2004).

Roztwór 5-(4-karboksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny (10 mg; 0.015 mmola), odpowiedniego alkoholu (alkohol oktadekanowy 3.8 mg, 0.015 mmol; lub alkohol cetylowy 3.6 mg 0.0015 mmol) i N,N-dimetyloaminopirydyna (DMAP; 4 mg; 0.0015 mmola) w 20 ml dichlorometanu został oziębiony do temperatury 0°C. Porcjami dodano rozpuszczony w dichlorometanie N,N'-dicykloheksylokarbodiimid (DCC 3.09 mg, 0.015 mmol), a następnie całość mieszaniny ogrzano do temperatury 25°C i mieszano przez 2 godziny. Produkty reakcji rozdzielono na kolumnie chromatograficznej stosując do tego celu żel krzemionkowy oraz mieszaninę chloroformu z metanolem (200:3). Uzyskano 3 frakcje:

porfiryne wyjściową, związek właściwy i produkt reakcji ubocznej, tzw. przegrupowania czterocentrowego. W reakcji tej następuje przegrupowanie O-acylo-N,N'-dicykloheksyloizomocznika do N-acylo-N,N'-dicykloheksylomocznika, co prowadzi do utraty związku acylującego i znacznego zmniejszenia wydajności reakcji.



Rys. 10. Mechanizm sprzęgania z wykorzystaniem odczynnika sprzęgającego N,N' -dicykloheksylokarbodiimidu; 2. Mechanizm reakcji konkurencyjnej- przegrupowania czterocentrowego.

Ze względu na fakt, iż w zaproponowanych w literaturze warunkach sprzęgania, reakcja konkurencyjna przebiega z wielokrotnie wyższą wydajnością, a pozyskanie żądanego produktu reakcji jest niesatysfakcjonujące, zdecydowano się na modyfikacje warunków reakcji.

Zmniejszenie powstawania produktu ubocznego reakcji można osiągnąć przez obniżenie temperatury reakcji. Zwiększenie stężenia substratów reakcji sprzyja dwucząsteczkowej reakcji sprzęgania bardziej niż jednocząsteczkowej reakcji przegrupowania w związek, z czym zdecydowano się na przeprowadzenie reakcji w mniejszej objętości rozpuszczalnika (Wróbel, 1983).

5-(4-karboksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryne (10 mg; 0.015 mmola) i odpowiedni alkohol (alkohol oktadekanowy 3.8 mg, 0.015 mmol; lub alkohol cetylowy 3.6 mg 0.015 mmol) umieszczono w kolbach miarowych o pojemności 10 cm³, do których dodano po 2 cm³ dichlorometanu i wstawiono do zamrażarki. Po dwóch dniach zawartość kolb zmieszano, dodano DMAP - dimetyloaminopirydyny (4 mg; 0.0015 mmola) i ponownie wstawiono do zamrażarki. Po około 40 minutach dodano 0.1 cm³ 0.5M roztworu DCC w dichlorometanie (schłodzonego do temperatury pozostałych reagentów) i pozostawiono w zamrażarce na kilka dni, przy czym raz dziennie zawartość kolby była wstrząsana, a przebieg reakcji monitorowany za pomocą TLC. Następnie zawartość kolby ogrzano do temperatury pokojowej i mieszano przez kilka dni. Właściwą porfiryne otrzymano w wyniku rozdziału na cienkiej warstwie. Fazę stacjonarną stanowił żel krzemionkowy, natomiast ruchomą mieszanina chloroform - metanol (200:3). Ze względu na bardzo małe różnice we współczynnikach podziału między właściwą frakcją, a pochodną powstającą w wyniku konkurencyjnej reakcji odczynnika sprzęgającego (DCC) zastosowano preparatywną chromatografię cienkowarstwową, która w tym przypadku okazała się metodą znacznie szybszą i efektywniejszą niż chromatografia kolumnowa. Modyfikacja procesu sprzęgania umożliwiła uzyskanie pożądanego produktu z wydajnością 40%.

C. 5,10,15-tri(4-pirydylo) - 20-(4-palmitamidofenylo)porfiryna

Procedura uzyskania 5,10,15-tri(4-pirydylo) - 20-(4-palmitamidofenylo)porfiryny została przeprowadzona w oparciu o postępowanie zaproponowane przez Li (Li H. 1997). Metoda ta opisuje syntezę pochodnej amidowej (5-(4-acetamidofenylo)- 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny). Zsyntetyzowany amid poddaje się deacylacji w wyniku, czego otrzymujemy aminę pierwszorzędową, której grupa funkcyjna jest modyfikowana poprzez sprzęganie z kwasem alkilowym. Poszczególne etapy pozyskania 5-(4-palmitamidofenylo)-10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryny zostały zamieszczone poniżej.

C1. 5-(4-acetamidofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna

4-acetamidobenzaldehyd (4.08g; 0.025 mola) i aldehyd 4 – pirydynowy (0.05 g, 0.467 mmol) ogrzewano w mieszaninie kwasu propionowego (300 cm³) i bezwodnika octowego (10 cm³). Po doprowadzeniu mieszaniny do temperatury wrzenia dodano porcjami 6.71 g (0.1 mol) pirolu, a następnie ogrzewano całość przez 1 godzinę. Po zakończeniu ogrzewania mieszaninę pozostawiono na 24h w temperaturze pokojowej. Następnie oddestylowano nadmiar kwasu propionowego i bezwodnika octowego, i pozostałość zobojętniono wodorowęglanem (IV) sodu. Fazę organiczną uzyskano w wyniku ekstrakcji przy zastosowaniu mieszaniny dichlorometan - woda. Resztę wody z fazy organicznej usuwano za pomocą bezwodnego siarczanu (VI) magnezu. Mieszaninę porfiryn w stałym stanie skupienia uzyskano przez oddestylowanie rozpuszczalnika organicznego.

Odpowiednią frakcję porfirynową otrzymano w wyniku rozdziału na kolumnie chromatograficznej. Fazy stacjonarne stanowiły tlenek glinu (oczyszczanie wstępne - filtracja) i tlenek krzemu (właściwy rozdział). Do filtracji z zastosowaniem tlenku glinu jako fazy ruchomej użyto chloroformu oraz mieszaniny chloroformu z metanolem (5:1). W przypadku żelu krzemionkowego eluent stanowiła mieszanina chloroformu i metanolu (60:1). Dobór faz do rozdziału osiągnięto dzięki zastosowaniu chromatografii cienkowarstwowej. W wyniku przeprowadzonej procedury syntezy i oczyszczania pozyskano właściwy związek jako piątą z kolei frakcję porfirynową. Otrzymano 48 mg produktu. Wydajność reakcji wynosiła 5%.

C2. 5-[4-aminofenylo] - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna

5-[4-(acetamido)fenylo] - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfirynę (0.03 g, 0.45 mmol) wraz z 33 ml stężonego kwasu solnego i 33 ml kwasu trifluorooctowego umieszczono w kolbie okrągłodennej i mieszano pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 80°C przez 36 godzin. Po oziębieniu roztworu do temperatury pokojowej jego pH zostało doprowadzone do wartości 9 przez dodanie wodnego roztworu amoniaku. Mieszaninę ekstrahowano w układzie chloroform - woda. Fazę organiczną przemywano 10% roztworem węglanu sodu i suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu. Po usunięciu rozpuszczalnika pozostałość oczyszczano na kolumnie chromatograficznej, gdzie fazę stacjonarną stanowił żel krzemionkowy, natomiast eluentem była mieszanina chloroformu i metanolu (80:1). Otrzymano 0.024g związku (wydajność reakcji wynosiła 80%).

C. 5-(4-palmitamidofenylo) -10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna

Kwas palmitynowy (3.78 mg, 0.0148 mmol) i 5-(4-aminofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryne (10 mg, 0.0148 mmol) umieszczono w kolbkach miarowych o pojemności 10cm³, a następnie do każdej dodano po 2 cm³ dichlorometanu i wstawiono do zamrażarki. Po dwóch dniach zawartość kolb zmieszano i dodano katalizatora w postaci N,N - dimetyloaminopirydyny (3.94 mg, 0.00148 mmol), po czym umieszczono je ponownie w zamrażarce. Po około 40 minutach dodano 0.1cm³ 0.5M roztworu dicykloheksylokarbodiimidu (DCC) w dichlorometanie. Całość pozostawiano w zamrażarce na okres kilku dni (raz dziennie kolbą wstrząsano). Następnie mieszaninę umieszczono w kolbie okrągłodennej i mieszano w temperaturze pokojowej przez kilka dni. Przebieg reakcji kontrolowano za pośrednictwem chromatografii cienkowarstwowej. Właściwy związek pozyskano w wyniku preparatywnego rozdzielu na cienkiej warstwie, w układzie faz żel krzemionkowy - chloroform, metanol (100: 1). Zastosowana procedura pozwoliła na otrzymanie 5 mg związku. Wydajność reakcji wynosiła 50%.

Ze względu na fakt, iż zarówno nazwy, jak i wzory strukturalne, uzyskanych w wyniku syntezy związków są dość długie, zdecydowano się dla uproszczenia wprowadzić symbole skrótowe, które zamieszczono poniżej. Zdecydowano także o włączeniu do badań pochodnej mocznikowej uzyskanej w wyniku konkurencyjnej reakcji sprzęgania.

Nazwa związku	Symbol
5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryna	P1
5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna	P2
5,10,15,20 -tetra-(9-fenantreno)porfiryna	P3
5-(4-heksadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryna	P4
5-(4-oktadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna	P5
N-[5-(4-karbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna]	P6
- N,N'-dicykloheksylomocznik	
5-(4-palmitamidofenylo) -10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna	P7

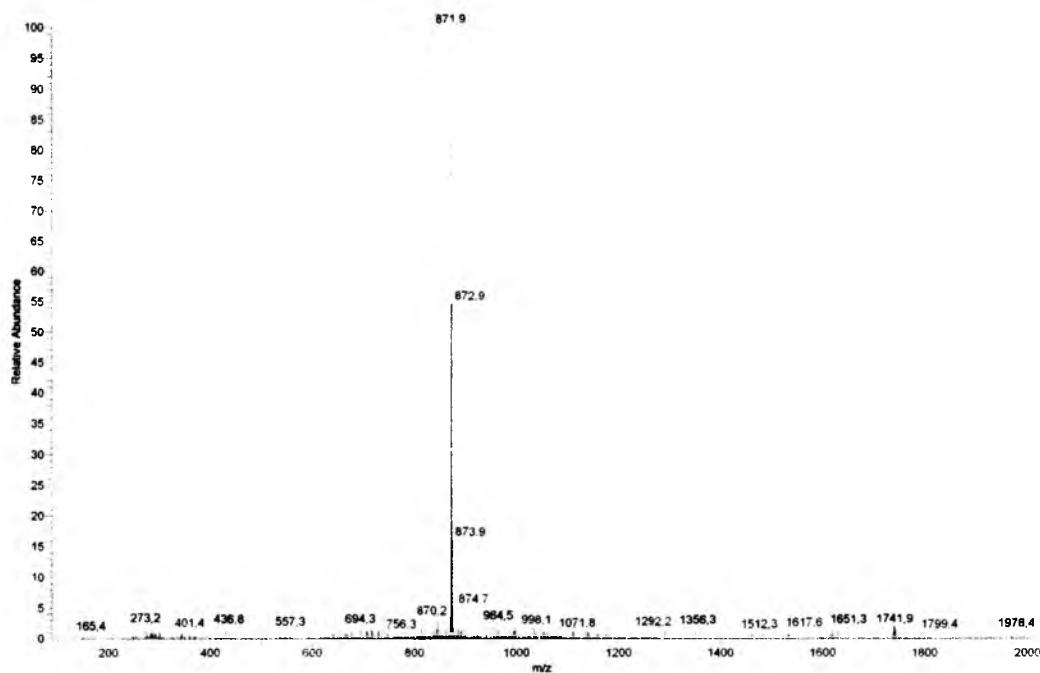
Tab.2. Zestawienie skrótów dla pochodnych porfiryn

10. IDENTYFIKACJA ZWIĄZKÓW Z WYKORZYSTANIEM METOD INSTRUMENTALNYCH: SPEKTROMETRII MASOWEJ I SPEKTROSKOPII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO

10.1. SPEKTROMETRIA MASOWA

Identyfikację zsyntetyzowanych porfiryn przeprowadzono przy pomocy spektrometrii masowej, z wykorzystaniem przyrządu 500-MS Ion Trap firmy Varian. Jonizacja odbywała się metodą elektrospreju (ESI MS), gdzie roztwór porfiryny (metanol/chloroform) trafiał bezpośrednio do komory jonizacyjnej. Napięcie między kapilarą, a elektrodą wynosiło 10kV, natomiast proces elektrospreju dodatkowo był wspomagany przez przepływ gazu obojętnego – azotu. Rolę detektora pełniła pułapka jonowa.

Przykładowe widmo masowe przedstawiono na Rys. 11.



Rys. 11. Widmo ESI MS dla związku P7.

Analiza widm ESI MS wykazała, iż główny pik występował w postaci jonu pozornie molekularnego (powstałego w wyniku protonowania cząsteczki) oraz odpowiadających mu pików jonów izotopowych charakterystycznych dla badanych związków.

Zestawienie mas cząsteczkowych dla poszczególnych związków wraz z uzyskanymi doświadczalnie stosunkami masy do ładunku dla jonów pozornie molekularnych zamieszczono w *Tabeli 3*.

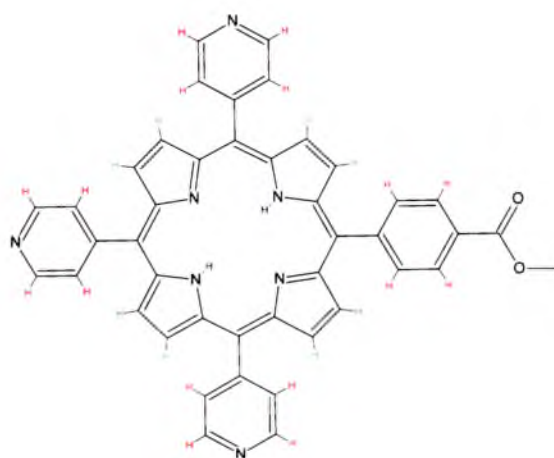
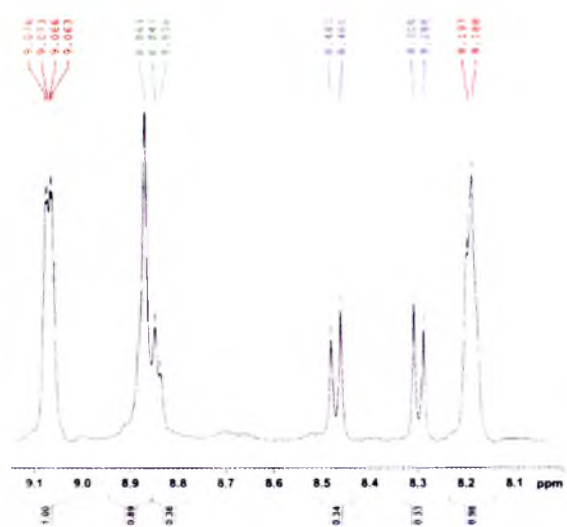
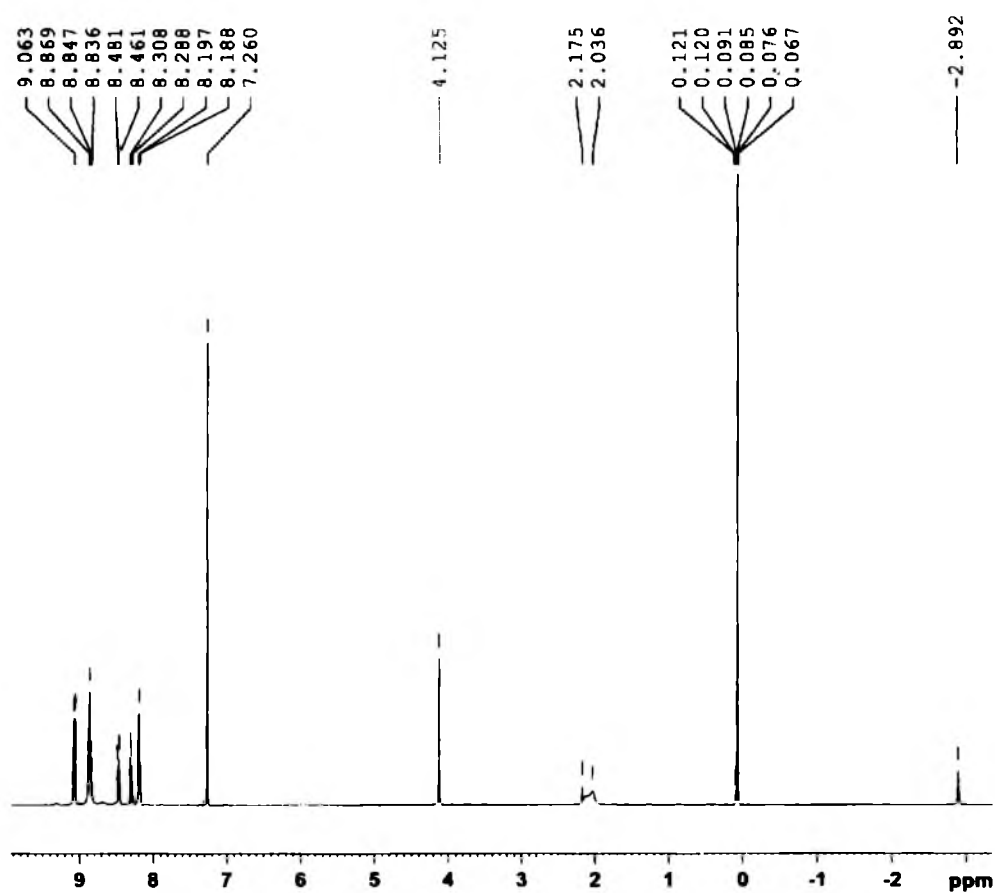
Związek	Masa cząsteczki	m/z
P1	858.1	858.7
P2	675.7	676.4
P3	1015.2	1016
P4	886.1	887
P5	914.2	916
P6	868.0	867.4
P7	871.1	871.9

Tab. 3. Zestawienie stosunku masy do ładunku(m/z) dla badanych porfiryn.

Otrzymane eksperymentalnie dane odpowiadają wartościom mas cząsteczkowych związków powiększonych o masę protonu, co stanowi podstawę do wnioskowania, że zsyntetyzowane związki zawierają założone na etapie syntezy podstawniki.

10.2. SPEKTROSKOPIA MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO ($^1\text{H-NMR}$)

Widma protonowego rezonansu magnetycznego ($^1\text{H-NMR}$) otrzymanych porfiryn zarejestrowano z wykorzystaniem Spektrometru Bruker. Pomiar przeprowadzono z częstotliwością podstawową 400 MHz, względem czterometylosilanu (TMS) jako wzorca. Deuterowany chloroform (CDCl_3) stanowił rozpuszczalnik dla badanych związków. Przykładowe widmo protonowego rezonansu magnetycznego przedstawiono na *Rysunku 12*.



Rys. 12. Widmo magnetycznego rezonansu protonowego dla 5-(4-metoksykarbonylofenylo)- 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryny (P2).

W cząsteczce P2 obecnych jest 12 protonów pochodzących od trzech podstawników pirydylowych. Każdy proton pirydylowy daje sygnał w postaci dubletu, co jest efektem struktury subtelnej wynikającej z oddziaływania momentów magnetycznych jąder (sprężenie spinowo - spinowe). W obrębie jednego podstawnika pirydylowego dublety sprzęgają się z wartością stałej sprzężenia równą 6 Hz. Odsłanianie jąder przez gęstość elektronową układu aromatycznego porfiryny powoduje, że dla tych protonów wartość pola magnetycznego potrzebna do rezonansu przesuwają się w stronę mniejszych częstości, co oznacza pojawienie się sygnału dla większych wartości przesunięcia chemicznego (9.07 i 8.2 ppm) w porównaniu do widma pirydyny. Odpowiednie protony podstawników pirydylowych są równocenne, w wyniku czego ich sygnały nakładają się – obserwujemy dwa dublety, a nie sześć. Podobnie sytuacja wygląda dla protonów fenylowych: 4 protony (po dwa równocenne), dające sygnały w postaci dubletów, odsłaniane są w mniejszym stopniu niż protony grup pirydylowych (8.3 i 8.2 ppm). Stała sprzężenia dla tych sygnałów wynosi 10 Hz. W skład podstawnika fenyłowego wchodzi również grupa metoksykarbonylowa, zawierająca trzy równocenne protony, dające singlet o charakterystycznym dla grupy estrowej przesunięciu chemicznym około 4 ppm. W makrocyklu porfiryńowym występuje 8 protonów w pozycji β , których sygnał przedstawia się w postaci multipletu. Iminowe protony są silnie przesłanianie przez układ aromatyczny, co skutkuje pojawieniem się szerokiego singletu dla ujemnych wartości przesunięcia chemicznego. Wielkość integracji dla każdego sygnału odpowiada liczbie protonów od których pochodzi. Zapis omówionego widma $^1\text{H-NMR}$ przedstawiono poniżej:

5-(4-metoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna (P2)

δ (ppm): 9.07, 8.2 (dd, 12H_{pyr} , $J=6$ Hz); 8.86-8.83 (m, 8H_β); 8.3, 8.2 (dd, 4H_{Ph} , $J=10$ Hz); 4.1 (s, 3H); -2.89 (bs, 2H_{NH})

5-(4-heksadekanoksyfenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo)porfiryna (P1)

δ (ppm): 9.02, 8.14 (dd, 12H_{pyr} , $J=5.4$ Hz); 8.94, 8.78 (dd, 4H_β); 8.82 (bs, 4H_β); 8.07, 7.27 (dd, $4\text{H}_{\text{aromat.}}$, $J=8.4$); 4.23 (t, 2H); 1.96 (q, 2H); 1.45 (q, 2H); 1.4-1.2 (m, $22\text{H}_{\text{alif.}}$); 0.76 (t, 3H); -2.88 (bs, 2H_{NH})

Interpretacja sygnałów pochodzących od protonów grup pirydylowych i fenylowych dla związku P1 jest identyczna jak dla związku P2. Charakteryzowana cząsteczka zawiera 33 protony alifatyczne, z których dwa równocenne związane z węglem grupy eterowej przedstawiają tryplet o przesunięciu około 4 ppm, właściwym dla tego rodzaju protonów. Kolejne dwie pary protonów dają dwa kwintety. W widmie obserwujemy multiplet od 22

protonów oraz tryplet od trzech równocennych protonów końcowej grupy metylowej. Wszystkie sygnały pochodzące od protonów alifatycznych znajdują się w zakresie przesunięć chemicznych charakterystycznych dla tego rodzaju protonów. Podobnie sytuacja wygląda dla protonów makrocyklu. Oberwujemy również sygnały od dwóch równocennych par protonów β , dające szeroki singlet oraz dublet dubletów pochodzący od kolejnych czterech protonów β (parami równocennych) w otoczeniu podstawników pirydylowych i fenylowych. Wartości przesunięć chemicznych, stałe sprzężenia oraz krotności sygnałów pierścienia porfirynowego są zgodne z wielkościami odnotowanymi w literaturze dla tego typu związków (Dolphin D. Volume IV 1979).

5-(4-heksadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna (P4)

δ (ppm): 9.04, 8.18 (dd, $12H_{py}$, $J=5.5$ Hz); 8.89-8.85 (m, $8H_{\beta}$); 8.5, 8.32 (dd, 4 H_{aromat} , $J=10$); 4.54 (t, 2H); 1.94 (q, 2H); 1.61 (q, 2H); 1.48 (q, 2H); 1.35-1.21 (m, $22H_{alif}$); 0.87 (t, 3H); -2.88 (bs, $2H_{NH}$)

Analiza sygnałów 1H -NMR związku P4 przedstawia się podobnie jak dla poprzednio omówionych związków. Prezentowane dane zawierają charakterystyczne wartości przesunięć chemicznych, krotności sygnałów oraz stałych sprzężenia zarówno dla makrocyklu porfirynowego jak i łańcucha alkilowego.

5-(4-oktadekanoksykarbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna (P5)

δ (ppm): 9.09, 8.18 (dd, $12H_{py}$, $J=5.5$ Hz); 8.9-8.85 (m, $8H_{\beta}$); 8.5, 8.3 (dd, 4 H_{aromat} , $J=10.5$); 4.54 (t, 2H); 1.95 (q, 2H); 1.61 (q, 2H); 1.38-1.21 (m, $28H_{alif}$); 0.87 (t, 3H); -2.86 (bs, $2H_{NH}$)

Analiza sygnałów 1H -NMR związku P5 przedstawia się podobnie jak dla poprzednio omówionych związków. Prezentowane dane zawierają charakterystyczne wartości przesunięć chemicznych, krotności sygnałów oraz stałych sprzężenia zarówno dla makrocyklu porfirynowego jak i łańcucha alkilowego.

N-[5-(4-karbonylofenylo) - 10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryna]-N,N'-dicykloheksylomocznik (P6)

δ (ppm): 9.06, 8.17 (dd, $12H_{py}$, $J=6$ Hz); 8.88-8.84 (m, $8H_{\beta}$); 8.3, 8.02 (dd, 4 H_{aromat} , $J=10.5$); 6.27 (m, $1H_{NH}$); 4.43 (m, 1H); 3.75 (m, 1H); 2.2-1.2 (m, $20H_{aromat}$); -2.87 (bs, $2H_{NH}$)

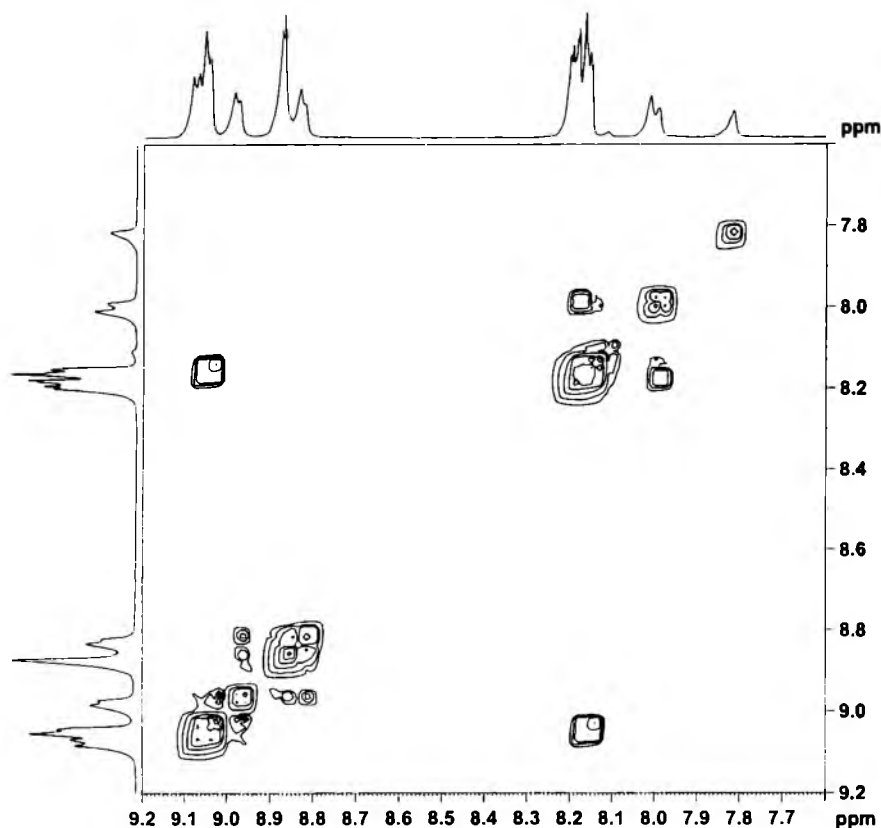
Interpretacja sygnałów pochodzących od protonów grup pirydylowych i fenyłowej oraz protonów makrocyklu porfirynowego dla związku P6 jest identyczna jak dla związku P2. Protony grupy mocznikowej dają charakterystyczne sygnały w postaci multipletów.

Dla dwóch pochodnych P3 i P7 konieczne było dodatkowe wykonanie dwuwymiarowych widm protonowego rezonansu magnetycznego (COSY – spektroskopia korelacyjna), w celu zidentyfikowania sprzęgających się protonów.

5-(4-palmitamidofenylo) -10,15,20-tri(4-pirydylo) porfiryryna (P7)

δ (ppm): 9.08- 9.04 (m, 6H_{pyr}); 8.87 (bs, 4H _{β}); 8.98 8.83 (dd, 4H _{β}); 8.2- 8.14 (m, 2 H_{aromat}, 6H_{pyr}); 8.0 (d, 2 H_{aromat}); 7.81 (s, H_{NH}); 2.6 (t, 2H); 1.91 (q, 2H); 1.41-1.28 (m, 24H_{alif}); 0.89 (t, 3H); -2.86 (bs, 2H_{NH})

Na podstawie widma jednowymiarowego przyporządkowano sygnały pochodzące od iminowych protonów pierścienia porfiryrynowego (szeroki singlet) oraz sygnały pochodzące od protonów łańcucha alkilowego. W celu poprawnego zidentyfikowania sprzęgających się protonów β oraz protonów grup pirydylowych i fenylowych konieczne było wykonanie dwuwymiarowego widma korelacyjnego (widmo protonowo – protonowe).



Rys.13. Widmo COSY ¹H-NMR dla próbki P7.

Na powyższym rysunku przedstawiono dwuwymiarowe widmo protonowego rezonansu magnetycznego. Na rysunku znajdują się dwie osie współrzędnych, będące osiami przesunięć chemicznych. Widma jednowymiarowe zostały umieszczone nad poszczególnymi osiami. Dwuwymiarowy obraz grup protonów przedstawiony jest w postaci warstw, które równocześnie informują o intensywności sygnałów. Korelacje pomiędzy sprzęgającymi się protonami wyznaczono na podstawie przecięć hipotetycznych normalnych do poszczególnych sygnałów na osiach współrzędnych. Stwierdzono, iż multiplet w przedziale 9.08 - 9.04 ppm opowiada 6 protonom grup pirydylowych sprzężonych z protonami pirydylowymi dającymi sygnał w multiplemie 8.2 - 8.14 ppm. Wkład do tego sygnału wnoszą również 2 protony fenyłowe sprzężone z protonami fenyłowymi dubletu 8.0 ppm. Protony w pozycji β pierścienia porfirynowego dają sygnały w postaci dwóch dubletów (4 protony) oraz szerokiego singletu. Singlet występujący przy 7.81 ppm nie sprzęga się z resztą protonów cząsteczki i odpowiada sygnałowi protonu grupy amidowej. Położenie tego sygnału jest charakterystyczne dla tego rodzaju grupy funkcyjnej. Wartości integracji odpowiadają liczbie protonów w cząsteczce.

5,10,15,20 -tetra-(9-fenantreno)porfiryne (P3)

δ (ppm): 8.96 (t 8H, 4,5-H); 8.64 (bs 8H $_{\beta}$); 8.6 (d 4H,10-H); 8.05 (d 4H, 1-H); 7.76 (t 4H, 2-H); 7.85 (t 4H,3-H); 7.63 (t 4H, 6-H); 7.4-7.2 (m 8H, 7,8-H); -2.1 (bs, 2H $_{NH}$)

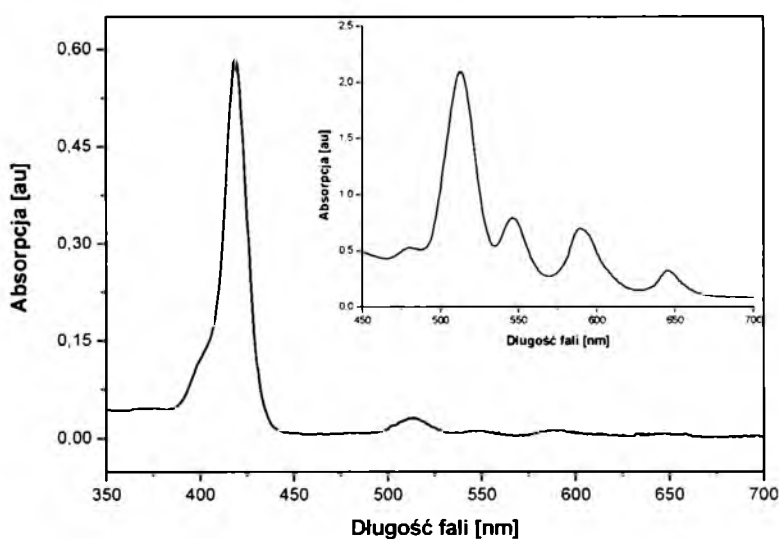
Zastosowanie identycznej procedury jak dla związku P7 umożliwiło charakterystykę sygnałów pochodzących od protonów próbki P3. Na podstawie widma jednowymiarowego zidentyfikowano protony pochodzące od makrocyklu porfirynowego przedstawiające się w postaci dwóch singletów. (Przy ujemnych wartościach przesunięcia chemicznego obserwujemy sygnały 2 protonów iminowych, natomiast dla wartości 8.64 ppm mamy szeroki singlet 8 równocennych protonów H $_{\beta}$.) Krotność oraz położenie sygnałów zgadzają się z danymi literaturowymi (Kuś P. i inni 1990). W celu identyfikacji sprzęgających się protonów podstawnika fenantrenowego zmierzono widma COSY. Protony w pozycjach 2,3,4,5,6 podstawnika fenantrenowego dają sygnały w postaci trypletu. Dublety charakterystyczne są dla protonów w pozycji 1 i 10. Ze względu na wpływ makrocyklu sygnały protonów w pozycji 7 i 8 występują w postaci multipletu. Wartości obliczona integracji dla poszczególnych sygnałów odpowiada liczbie protonów.

Szczegółowa analiza przesunięć chemicznych, krotności sygnałów oraz stałych sprzężenia przeprowadzona dla siedmiu pochodnych porfiryn, potwierdza obecność grup

charakterystycznych dla badanych związków oraz ich położenie w cząsteczce.

11. SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W ZAKRESIE WIDZIALNYM I ULTRAFIOLECIE

Spektrofotometr Genesys posłużył do zarejestrowania widm absorpcji porfiryn w zakresie widzialnym i ultrafiolecie. Źródło światła stanowiła lampa ksenonowa. Dla chloroformowych roztworów porfiryn o stężeniach 10^{-4} i 10^{-6} g/cm³ przeprowadzono pomiary w zakresie spektralnym 200nm - 800 nm, z krokiem 1nm.



Rys.14. Pasma absorpcji dla porfiryny P5

Zaobserwowano długofalowe pasmo Q w zakresie 516nm - 650 nm, natomiast stukrotne rozcieńczenie roztworu (stężenie 10^{-4} g/cm³) umożliwiło rejestrację bardzo intensywnego pasma Soreta przy około 420nm.

Związek	Pasmo Soreta	Pasmo Q			
	B(0-0)				
	$\lambda_{\max} [\text{nm}]$	$Q_y(1-0)$	$Q_y(0-0)$	$Q_x(1-0)$	$Q_x(0-0)$
	$(\epsilon \times 10^5 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}])$	$\lambda_{\max} [\text{nm}]$	$\lambda_{\max} [\text{nm}]$	$\lambda_{\max} [\text{nm}]$	$\lambda_{\max} [\text{nm}]$
		$(\epsilon \times 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}])$	$(\epsilon \times 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}])$	$(\epsilon \times 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}])$	$(\epsilon \times 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}])$
P1	420 (2,14)	514 (1,85)	549 (0,73)	591 (0,55)	648 (0,29)
P2	419 (8,85)	513 (1,73)	547 (0,57)	588 (0,52)	645(0,23)
P3	427 (5,5)	516 (2,24)	550 (0,45)	591 (0,66)	648 (0,15)
P4	417 (3,21)	513 (1,27)	548 (0,42)	588 (0,41)	643 (0,17)
P5	419 (5,34)	513 (1,91)	546 (0,72)	589 (0,63)	645 (0,29)
P6	419 (2,43)	513 (1,52)	547 (0,52)	589 (0,46)	646 (0,23)
P7	420 (4,05)	514 (1,48)	549 (0,56)	549 (0,43)	647 (0,21)

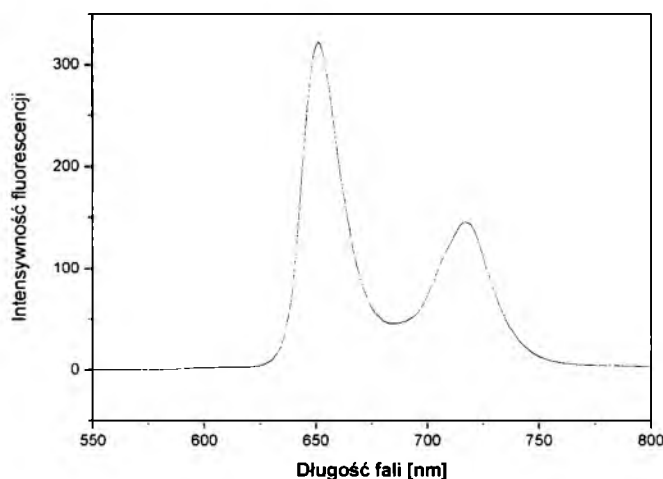
Tab.4. Położenie maksimów pasm absorpcji oraz molowe współczynniki absorpcji dla badanych związków

Zestawienie maksimów absorpcji oraz molowych współczynników absorpcji zostało przedstawione w Tabeli 4. Na podstawie analizy kształtu pasm absorpcji stwierdzono, iż dla wszystkich zbadanych pochodnych, za wyjątkiem tetra-fenantrenoporfiryny, położenie równowagowe jąder w stanie elektronowo wzbudzonym jest niezmienione w stosunku do stanu podstawowego. Oznacza to, że kształt cząsteczek nie ulega zmianie w trakcie wzbudzenia (przejścia wertykalne). Dla P3 pasmo $Q_x(1-0)$ (nomenklatura wg Platta 1956) charakteryzuje się większą intensywnością absorpcji niż pasmo $Q_y(0-0)$, co świadczy o zmianie położenia równowagowego jąder w elektronowym stanie wzbudzonym i zostało odnotowane w literaturze (Kuś P. i inni 1990). Zgodnie z klasyfikacją Sterna (Stern i inni 1936) dotyczącą typów zmienności intensywności pasma Q, w zależności od zewnętrznych podstawników, porfiryne P3 zalicza się do typu *rhodo*, natomiast pozostałe związki do typu *etio*.

12. SPEKTROSKOPIA EMISYJNA – FLUORESCENCJA

Rejestrację pasm emisji porfiryn przeprowadzono za pomocą spektrofotometru fluorescencyjnego Cary Eclipse firmy Varian. Źródło promieniowania stanowiła lampa ksenonowa, z układem dwóch monochromatorów. Pomiary wykonano dla roztworów porfiryn w tolunie, o stężeniu opowiadającym współczynnikowi absorpcji 0.02 cm^{-1} przy długości fali 420 nm. Układ wzbudzano falą o długości 420 nm. Zebrano informacje z zakresu spektralnego 350 nm – 800 nm, z krokiem 1nm. Pomiary przeprowadzono w warunkach zbliżonych do beztlenowych, które osiągnięto w wyniku przedmuchiwania roztworów argonem przez 30 minut.

W wyniku przeprowadzonych pomiarów zarejestrowano widma emisji porfiryn, które dla wszystkich związków mają postać dwóch pasm mieszczących się w zakresie 650 nm – 719 nm.



Rys. 15. Typowe pasmo fluorescencji dla wybranej porfiryny P4

Wyznaczenia wydajności fluorescencji dla pochodnych porfiryn dokonano poprzez zastosowanie metody porównawczej (Parker C.A., Rees T.W. 1960) względem eksperymentalnie określonej wartości bezwzględnej wydajności fluorescencji dla 5, 10, 15, 20-tetrafenyloporfiryny (0.10) (Pineiro M. i inni 1998).

Związek	Q(0-0) [nm]	Q(0-1) [nm]	Wydajność fluorescencji
P1	651	718	0.09
P2	648	716	0.10
P3	651	719	0.09
P4	651	717	0.08
P5	651	716	0.08
P6	650	717	0.10
P7	651	717	0.08

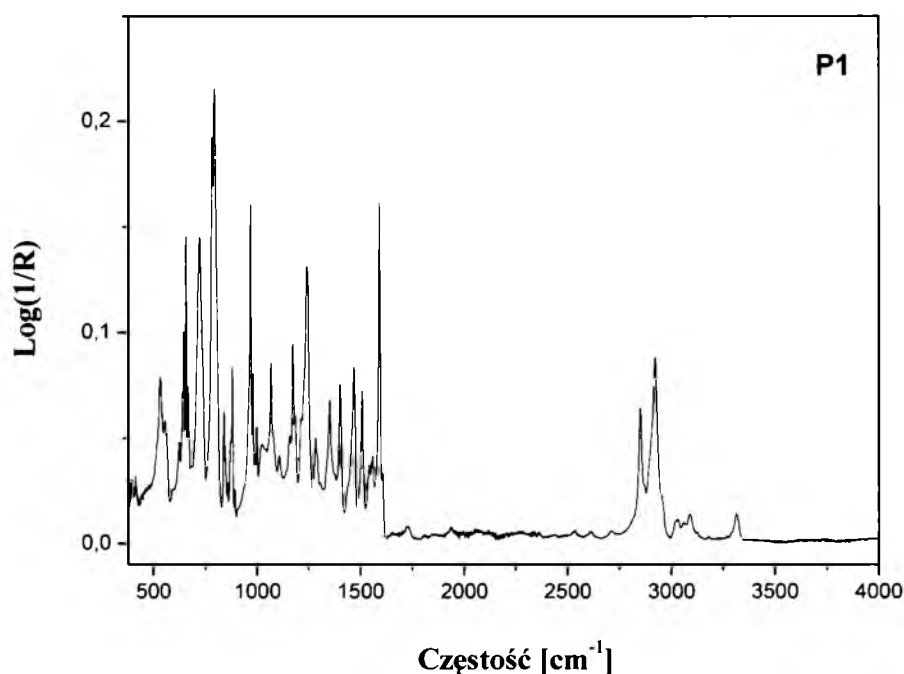
Tab.5. Położenie maksimów pasm emisji oraz kwantowa wydajność fluorescencji dla badanych porfiryn

Uzyskane w ramach eksperymentu wartości wydajności fluorescencji nie przekraczają 10%. Niska wydajność fluorescencji raczej wyklucza zastosowanie badanych związków w diagnostyce fotodynamicznej. Wskazuje natomiast na potencjalnie większe prawdopodobieństwo zaistnienia przejścia interkombinacyjnego w badanych materiałach, co sugeruje możliwość uzyskania większych wartości wydajności tlenu singletowego.

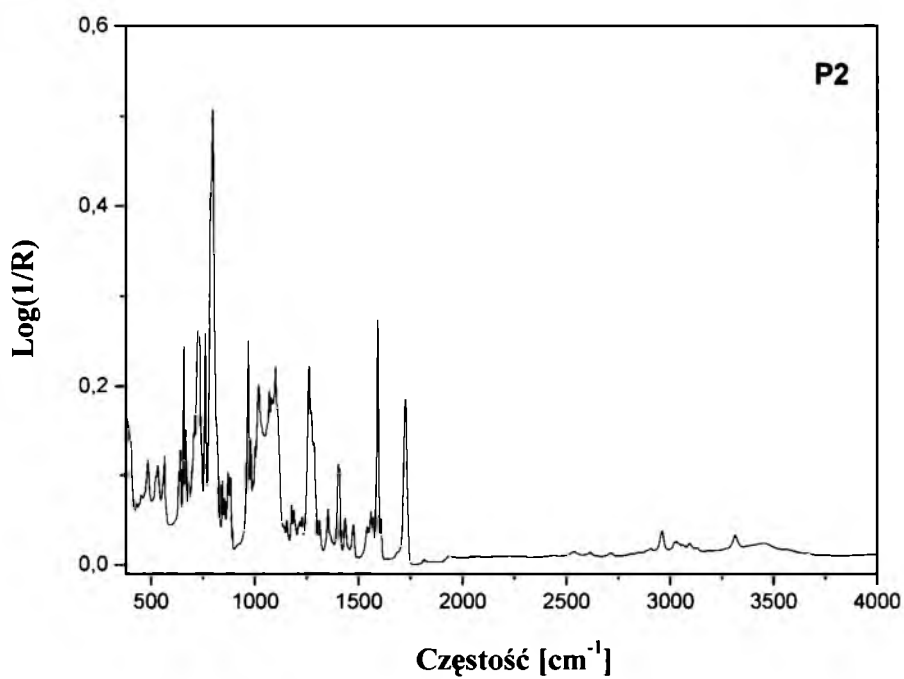
13. SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI

Pomiary widm absorpcji w zakresie podczerwieni wykonano za pomocą spektrometru fourierowskiego Bio-Rad FTS-600, wyposażonego w rozdzielacz wiązki KBr i detektor DTGS Peltier. Źródło światła stanowiły standardowa ceramika do pomiaru zakresu podczerwieni średniej oraz halogenowa lampa wolframowa dla bliskiej podczerwieni. Widma pochodnych porfiryn zostały zmierzone przy zastosowaniu metody osłabionego całkowitego odbicia (ATR - Attenuated Total Reflection), co zostało osiągnięte dzięki wykorzystaniu diamentowej przystawki ATR MIRacle z pryzmatem KRS5 (bromek i jodek talu). Metoda ta umożliwia pomiar związków wykazujących silną absorpcję, co charakteryzuje związki porfiryne.

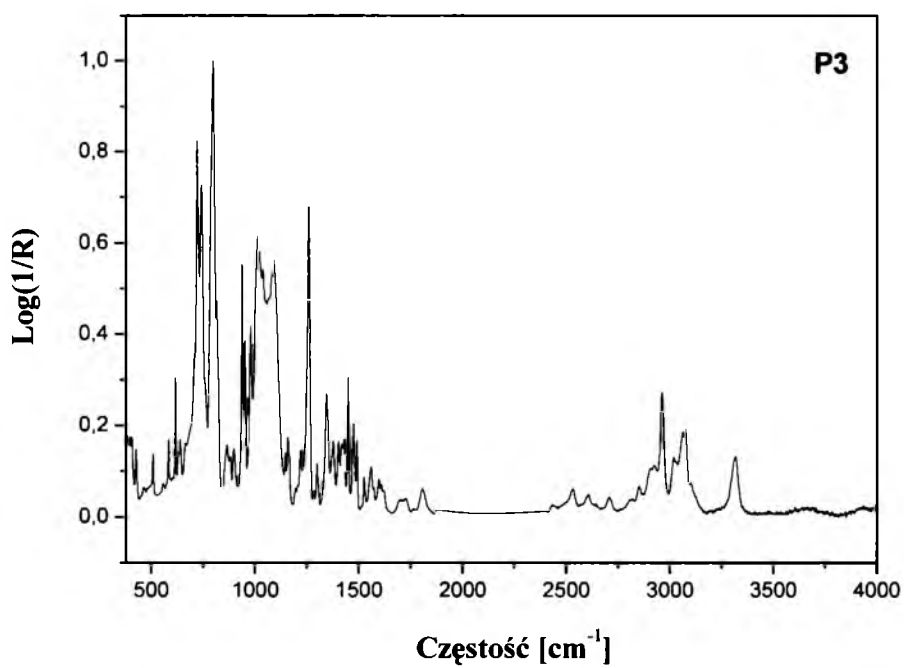
W wyniku przeprowadzonych pomiarów zarejestrowano widma absorpcji porfiryn w zakresie $380 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, z rozdzielczością równą 2 cm^{-1} . Eksperyment przeprowadzono w temperaturze pokojowej, gdzie dla każdej próbki wykonano 32 skany. Uzyskane dane doświadczalne poddano analizie komputerowej wykorzystując do tego celu program Grams Research. W celu wyodrębnienia maksimów absorpcji z poszczególnych pasm przeprowadzono procedurę dekonwolucji. Intensywność i kształt pików były dopasowywane z zastosowaniem funkcji Voigt.



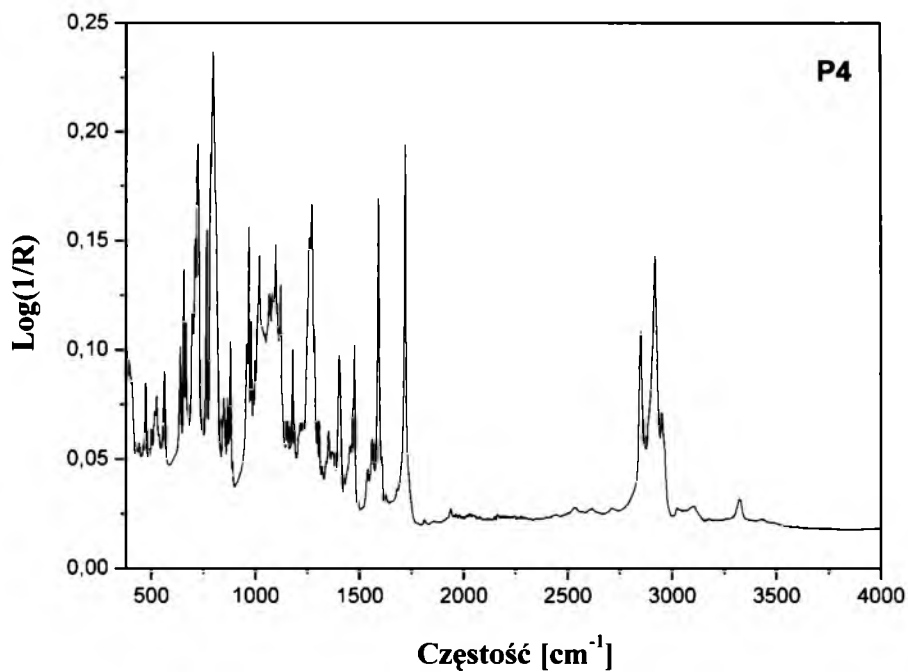
Rys. 16. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P1



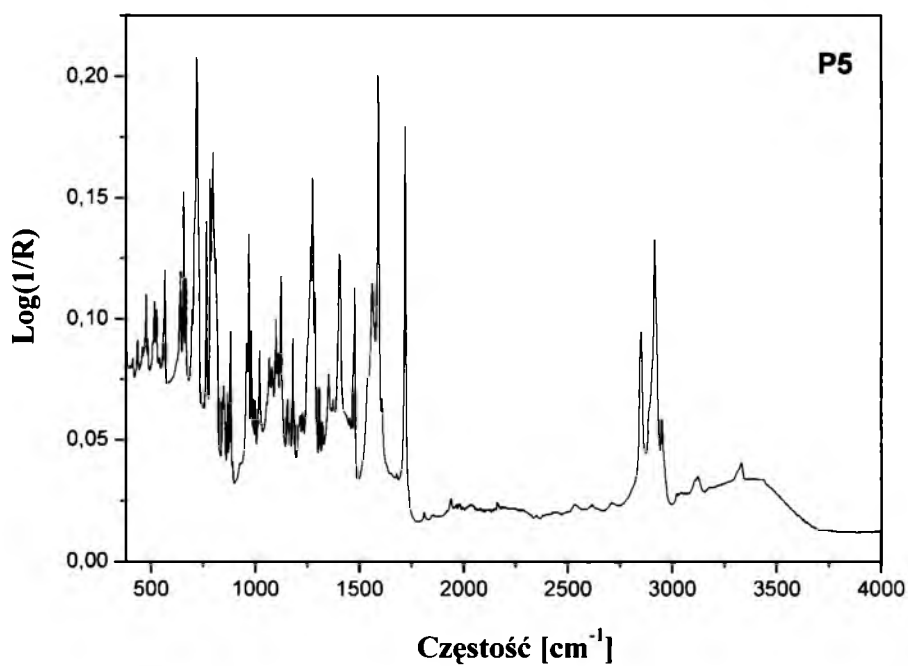
Rys. 17. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P2.



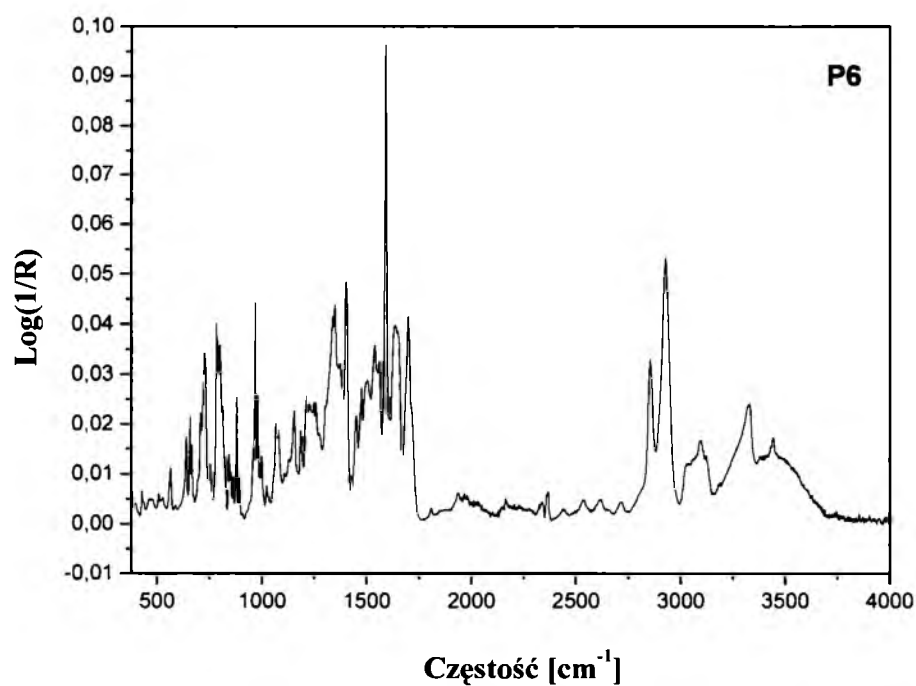
Rys. 18. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P3.



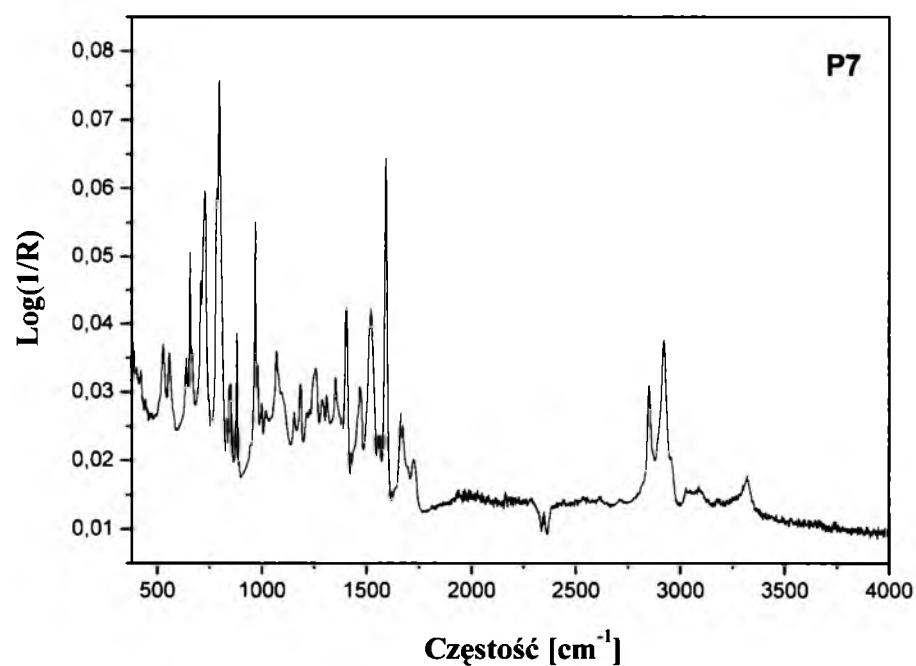
Rys. 19. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P4.



Rys. 20. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P5.



Rys. 21. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P6.



Rys. 22. Widmo podczerwieni uzyskane eksperymentalnie dla próbki P7.

Wszystkie próbki wykazują obecność drgań zakresie $3315 - 3331 \text{ cm}^{-1}$, które odpowiadają wartością drgań rozciągających grupy N-H makrocyklu porfirynowego (Dolphin v.III 1978). W obszarze od około $3200 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ obserwujemy drgania rozciągające grup C-H układów aromatycznych (układów porfirynowych, pierścieni fenylowych, pirydylowych itp.), w tym charakterystyczne drgania rozciągające C_p-H ($3070 - 3130 \text{ cm}^{-1}$). Zakres $2950 - 2850 \text{ cm}^{-1}$ odpowiada oscylacjom grup CH₃ i CH₂. Od około 1600 cm^{-1} do 1500 cm^{-1} występują drgania rozciągające wiązań węgiel - węgiel pierścieni pirolowych oraz podstawników fenylowych czy pirydylowych. Poniżej częstości 1500 cm^{-1} klasyfikują się drgania deformacyjne grup C-H, N-H, C-C, w tym drgania szkieletu pierścienia porfirynowego oraz podstawników.

13.1. MODELOWANIE CZĘSTOŚCI DRGAŃ Z WYKORZYSTANIEM TEORII FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI

Obliczenia widm podczerwonych pochodnych porfiryn przeprowadzono przy użyciu programu PQS, z zastosowaniem metody obliczeniowej bazującej na teorii funkcjonałów gęstości (DFT). Do tego celu wykorzystano funkcjonał B3LYP oraz bazę funkcji falowych 6-31G*. Do kalkulacji wykorzystano 8-procesorowy klaster: Opteron 2GHz, 16 GB RAM z macierzą dyskową. Przeprowadzone procedury umożliwiły optymalizację geometrii poszczególnych molekuł oraz wyznaczenie częstości i intensywności harmonicznich ich drgań normalnych. Uzyskane wartości częstości oscylacji zazwyczaj odbiegają od wielkości wyznaczonych na drodze eksperymentu. Wynika to m.in. z zastosowanych w metodzie DFT przybliżeń jak również z faktu, że obliczenia zostały przeprowadzone dla pojedynczych, izolowanych molekuł przez co nie uwzględniono wpływu oddziaływań międzycząsteczkowych na geometrię i drgania molekuł. Nieuwzględnienie anharmoniczności skutkuje zawyżeniem częstości drgań, co powoduje, iż zachodzi konieczność skalowania tychże częstości. W celu przybliżenia teoretycznych wartości częstości do wartości doświadczalnych wybrano metodę SQM skalowania stałych siłowych (Scaled Quantum Mechanical Force Field – SQM force field) (Pulay P. i inni 1979, 1983), która jak wynika z literatury (Raunhut G., Pulay P. 1995), znacznie zmniejsza błędy obliczeń. W metodzie SQM skalowania stałych siłowych, pole siłowe opisuje energię molekuły jako funkcje położenia

jąder. Obliczone stałe dla współrzędnych wewnętrznych molekuł grupuje się ze względu na podobne czynniki skalowania (np. dla drgań rozciągających CH), a następnie skaluje mnożąc przez czynnik skalujący. Wartości tych współczynników zostały wyznaczone przez autorów metody, poprzez dopasowanie częstości obliczonych w modelu B3LYP/6-31G* do obserwowanych częstości doświadczalnych grupy molekuł organicznych (Raunhut G., Pulay P. 1995). Wartości współczynników skalowania zamieszczono w *Tabeli 6*. Na kolejnych *Rysunkach 23 – 29* przedstawiono wykresy skalowanych widm teoretycznych z widmami doświadczalnymi. W tabelach poniżej rysunków zamieszczono zestawienia częstości teoretycznych i doświadczalnych oraz charakterystykę drgań. Opis drgań przeprowadzono na podstawie analizy energii drgań PED (Potential Energy Distribution), gdzie określenie typu drgania odbywa się poprzez wskazanie współrzędnych wewnętrznych (długości wiązań, kątów płaskich i torsyjnych), których zmiany w trakcie osycylacji wnoszą największy wkład do energii wibracyjnej. Do celów analizy energii drgań PED wykorzystano program GausViews (www.gaussian.com/gv_plat.htm).

Drganie	Czynnik skali
X-Y rozciągające	0.923
X-H rozciągające	0.919
XYZ zginające	0.995
XY-H zginające	0.951
H-X-H zginające	0.913
Poza płaszczyzną	0.975
XO-H; XN-H zginające	0.887
Deformacje liniowe	0.900
Skręcające układów sprzężonych	0.796
Skręcające układów pojedynczych	0.942

Tab. 6. Czynniki skalowania wg Raunhut G., Pulay P. 1995

Drgania pochodnych porfiryn scharakteryzowano przy pomocy nomenklatury zaproponowanej dla porfiryryny przez Li i Zgierski (Li X.Y., Zgierski M.Z., 1995), gdzie przedstawione zostały drgania w płaszczyźnie pierścienia porfirynowego. Drgania poza płaszczyzną pierścienia porfirynowego przyporządkowano w oparciu o pracę Li, Czernuszewicz i inni (Li X.Y., Czernuszewicz R.S. i inni 1989). Dodatkowo w celu identyfikacji drgań wykorzystano prace Kozłowskiego (Kozłowski P.M. i inni 1996). Przyporządkowania drgań dla podstawników fenyłowych i pirydyłowych dokonano w oparciu o charakterystykę przedstawioną dla pochodnych benzenu przez Varsanyi (Varsanyi G. 1974).

Specyfikację skrótów wykorzystanych do opisu poszczególnych drgań przedstawiono w Tabeli 7.

Charakterystyka drgań

v – rozciągające, δ – deformacyjne w płaszczyźnie, γ – deformacyjne poza płaszczyzną, δCH_2 : s – nożycowe, t – skręcające, r – wahadłowe, w – wachlarzowe

s – symetryczne, as – asymetryczne

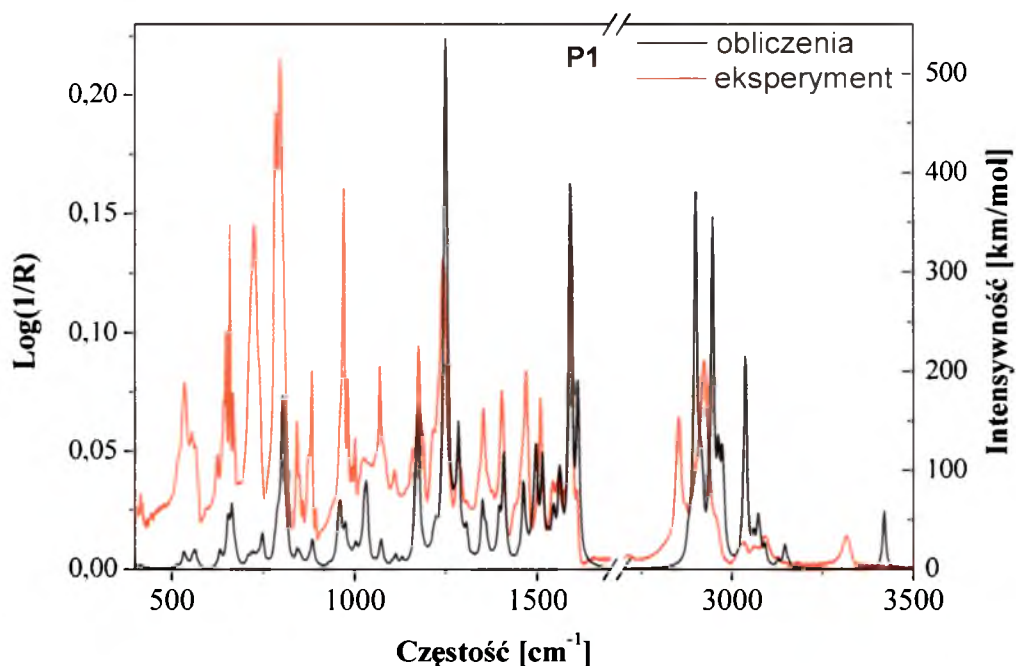
Dragania w płaszczyźnie: v pyr h-r – rozciągające połowę pierścienia pirolowego, v pyr q-r – rozciągające ćwierć pierścienia pirolowego, pyr breath – rozciągające pierścień pirolowy „oddychające”, pyr def – deformacyjne pierścienia pirolowego, pyr rot – rotacyjne pierścienia pirolowego

Dragania poza płaszczyzną: pyr fold – składające pierścienia pirolowego, pyr tilt – przechylające pierścienia pirolowego

C_{ph} – węgiel fenylowy, C_{py} – węgiel pirydylowy, C_{phen} – węgiel fenantrenowy, $C_{cyclohex}$ – węgiel cykloheksanu

Intensywność: vs – bardzo silny, s – silny, m – średni, w – słaby; vw – bardzo słaby

Tab. 7. Charakterystyka skrótów wykorzystanych przy opisie drgań



Rys. 23. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P1.

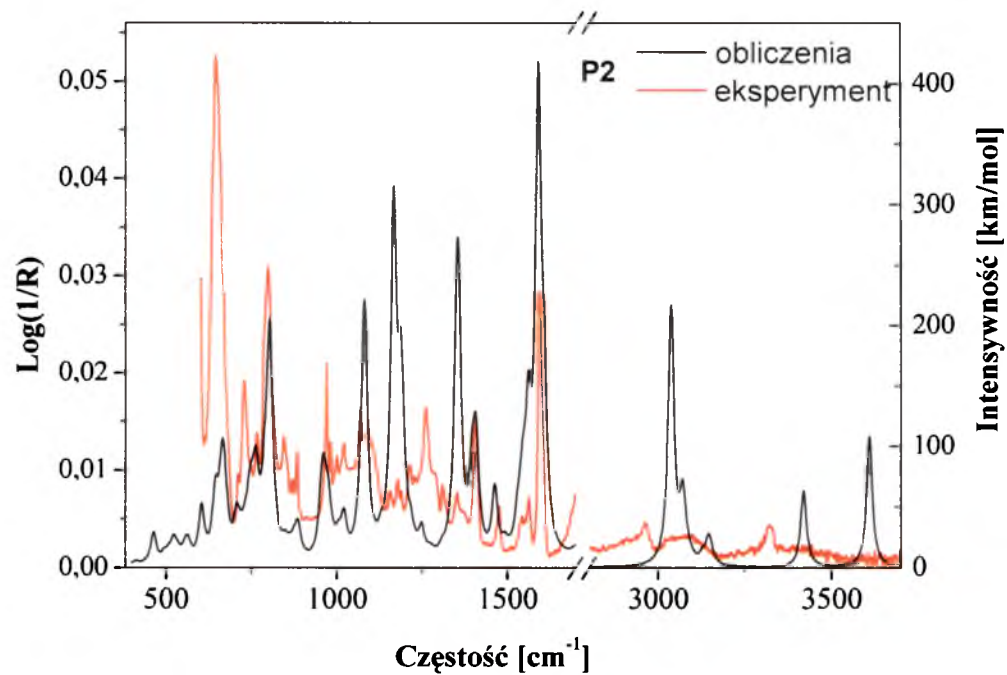
Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensywność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3420	61.0	1321.3	3315.8 vw	$\nu_{\text{N-H}}$
3147	10.4	255.0	3120.9 vw	$\nu_{\text{C}\beta\text{H}}$ (v14)
3091	19.0	255.5	3092.2 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v2)
3073	12.6	150.5	3061.9 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v20b)
3038	79.3	36.1	3022.0 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v20a)
2972	69.4	34.2	2951.5 vw	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
2946	328.9	2.0	2924.6 s	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$
2918	42.5	143.0	2899.7 vw	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$
2911	43.9	205.3	2870.6 vw	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
2899	365.4	159.4	2853.0 m	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$
1612	166.8	1539.8	1607.6 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{ph}}\text{C}_{\text{ph}}}$ (v8a)
1592	53.8	505.4	1593.5 vs	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8a)
1591	242.2	111.4		$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8a)
1590	87.2	540.7	1573.3 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8a)
1566	33.2	50.6	1561.3 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8b)
1563	11.4	1541.9		$\nu_{\text{C}_{\alpha}\text{-C}_{\text{m}}}$ (v37a)
1560	59.0	273.3	1554.3 vw	$\nu_{\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\beta}}$ (v2)
1547	12.0	35.2	1541.8 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8b) + $\nu_{\text{C}_{\alpha}\text{-C}_{\text{m}}}$ (v19)
1544	32.2	184.1		$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v8b)
1515	94.0	216.2	1516.7 vw	$\nu_{\text{C}_{\alpha}\text{-C}_{\text{m}}}$ (v37b) + $\nu_{\text{C}_{\text{ph}}\text{C}_{\text{ph}}}$ (v19a)
1498	83.3	29.6	1508.6 w	$\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$
1490	12.8	5.9	1474.8 vw	$\nu_{\text{C}_{\text{p}}\text{C}_{\text{p}}}$ (v19a)
1463	70.5	161.3	1468.6 w	$\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$
1448	4.9	889.8	1459.3 vw	$\nu_{\text{C}_{\alpha}\text{-C}_{\text{m}}}$ (v28)
1435	2.7	59.1	1437.2 vw	$\nu_{\text{C}_{\alpha}\text{-C}_{\text{m}}}$ (v3)
1410	33.4	72.3	1401.4 w	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v19b)
1409	59.9	30.4		$\delta_{\text{w}}\text{CH}_2(\text{O})$
1396	41.0	171.1	1389.3 vw	δCH_3
1377	3.9	892.6	1378.5 vw	ν (pyrr q-r) (v20)
1360	26.2	264.9	1365.0 vw	ν (pyr q-r) (v4)
1350	28.4	193.5	1352.3 vw	ν (pyr q-r) (v40b)
1350	36.4	339.0		ν (pyr h-r) (v41a)
1306	27.6	110.9	1305.1 vw	$\delta_{\text{t}}\text{CH}_2$
1284	121.8	459.0	1284.1 vw	$\delta_{\text{w}}\text{CH}_2$

1274	29.8	38.1	1261.9 vw	$\delta_{\text{C}\beta\text{-H}}$ (v51b)
1267	18.6	3.5		δ_{wCH_2}
1252	280.0	75.2	12445.5 m	$\nu_{\text{asC-O-C}}$
1249	266.1	38.6		$\delta_{\text{C}\beta\text{-H}}$ (v26) + $\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v14)
1244	42.8	5.7	1227.0 w	$\nu_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v14)
1224	19.3	1596.5	1213.5 vw	δ_{rCH_2}
1189	6.7	90.8	1186.0 vw	δ_{rCH_2}
1175	136.0	206.5	1175.2 w	$\delta_{\text{C}_{\text{ph}}\text{H}}$ (v9a)
1167	47.2	181.3	1159.2 vw	$\delta_{\text{C}\beta\text{-H}}$ (v42b)
1113	10.5	11.2	1109.4 vw	$\delta_{\text{C}_{\text{ph}}\text{C}_{\text{ph}}}$ (v18b)
1075	5.8	96.5	1076.5 vw	$\delta_{\text{C}\beta\text{-H}}$ (v13) + $\delta_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v14)
1074	11.9	18.4		$\delta_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v18a)
1066	3.5	6.3	1156.8 vw	$\nu_{\text{asC-C-C}}$ skel
1034	59.2	9.2	1042.7 vw	$\nu_{\text{asC-C-C}}$ skel + $\nu_{\text{asC-O-C}}$
1027	40.5	17.0	1024.5 vw	$\nu_{\text{asC-O-C}}$
1004	15.1	45.3	1000.6 vw	ν (pyr h-r) (v30)
998	6.1	10.4		ν (pyr h-r) (v6)
990	3.5	56.7	990.2 vw	$\nu_{\text{C-C-C}}$
987	2.3	120.8		ν (pyr h-r) (v44a)
986	2.7	82.3		$\delta_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v12)
981	4.1	26.2		δ_{rCH_2}
975	33.4	81.0	981.4 vw	ν pyrrole breath (v47b)
963	21.6	11.4	970.9 w	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v17a) + ν pyrrole h-r
962	31.2	120.5		ν pyrrole h-r (v15)
956	25.8	36.5	965.0 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v5)
889	7.8	31.6	893.5 vw	ν pyrrole h-r (v4)
885	19.5	28.5	882.9 w	δ_{rCH_3} + ν_{CCC}
881	2.0	26.9	874.9 vw	δ_{pyrr} def (v48a)
853	5.8	22.3	856.9 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v17b)
848	5.6	21.7	849.8 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v17b)
843	10.3	4.4	842.3 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v17b)
807	60.6	37.1	806.8 w	$\gamma_{\text{C}\beta\text{-H}}$
804	108.4	7.7	797.1 m	$\gamma_{\text{C}\beta\text{-H}}$ + $\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v10a)
790	22.6	46.8	784.9 m	δ_{rCH_2} + $\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{H}}$ (v10a)
749	22.0	6.4	741.0 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v4)
735	6.7	11.7	726.8 w	$\gamma_{\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{py}}}$ (v4) + γ_{CC} porf
721	5.9	1.1	716.0 vw	δ_{rCH_2}
721	3.9	0.3		δ_{rCH_2}
712	5.6	10.7	710.1 vw	$\gamma_{\text{C}_{\text{ph}}\text{C}_{\text{ph}}}$ (v4) + $\gamma_{\text{C}\beta\text{-H}}$

708	6.2	28.0		$\gamma_{C\beta-H}$
671	2.9	106.9	672.6 vw	$\gamma_{CC} + \gamma_{C_{py}C_{py}} (v6b)$
667	15.1	21.1	666.9 vw	$\gamma_{C\beta-H}$
665	22.4	22.8	657.9 m	$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v6a)$
664	21.5	42.3	647.8 w	$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v6a)$
654	43.1	15.9	641.9 vw	$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v6a)$
632	15.4	24.7	635.7 vw	$\gamma_{C\beta-H}$
574	2.0	6.2	570.7 vw	$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v16b)$
565	12.0	22.0	564.2 vw	$\gamma (pyr\ fold) + \gamma_{C_aC_m}$
561	5.8	2.7	555.7 vw	$\gamma_{C_{ph}C_{ph}} (v16b)$
556	6.6	12.8		$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v16b)$
533	13.7	3.1	534.4 vw	$\gamma_{CC\ porf} + \gamma_{C_{py}C_{py}} (v16b)$
515	2.6	5.3	516.5 vw	$\gamma_{C_aC_m}$
416	1.2	104.4	415.0 vw	$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v16a) + \delta (pyr\ rot)$
415	1.9	15.6		$\gamma_{C_{py}C_{py}} (v10b) + \delta (pyr\ rot)$
400	4.3	3.7	399.0 vw	$\delta(pyr\ rot) (v33) + \gamma_{C_{py}C_{py}} v10b)$

Tab. 8. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P1.

Zestawienie eksperymentalnego widma podczerwonego dla próbki P1, z widmem uzyskanym w wyniku symulacji DFT umożliwiło szczegółową analizę drgań cząsteczki tego związku. Stwierdzono obecność charakterystycznego drgania rozciągającego N-H makrocyclu pofirynowego przy częstości 3315 cm^{-1} , a także drgań rozciągających $C\beta-H$ i CC pierścieni pirolowych. Zidentyfikowano typowe drgania szkieletu porfirynowego takie jak: rozciągające połowę lub ćwierć pierścienia pirolowego ($\nu\ pyr\ h-r: 1000\text{ cm}^{-1}, 990\text{ cm}^{-1}$; $\nu\ pyr\ q-r: 1378 - 1352\text{ cm}^{-1}$), drgania „oddychające” ($\nu\ pyr\ breath: 981\text{ cm}^{-1}$), drgania deformacyjne ($\nu\ pyr\ def: 875\text{ cm}^{-1}$) czy rotacyjne ($\nu\ pyr\ rot: 415\text{ cm}^{-1}$). Przypisano również częstości drganiom poza płaszczyznę pierścienia tzw. drganiom składającym pierścień porfirynowy ($\nu\ pyr\ fold: 562\text{ cm}^{-1}$). Potwierdzono obecność odpowiednich podstawników w związku P1 poprzez przypisanie częstości charakterystycznych dla drgań rozciągających w pirydynie $C_{py}-H$ ($3092-3022\text{ cm}^{-1}$), $C_{py}-C_{py}$ ($1593 - 1573\text{ cm}^{-1}$) i fenylu $C_{ph}-C_{ph}$ (1607 cm^{-1}). Zidentyfikowano również drgania deformacyjne pierścieni pirydylowych i fenyłowych (m.in.: $C_{ph}C_{ph}: 555\text{ cm}^{-1}, 1109\text{ cm}^{-1}$; $C_{py}C_{py}: 570\text{ cm}^{-1}, 741\text{ cm}^{-1}$). Obecność wiązania eterowego w cząsteczce P1 została potwierdzona poprzez identyfikację drgań rozciągających C-O-C 1244 cm^{-1} i 1024 cm^{-1} . Zaobserwowano również występowanie charakterystycznych drgań rozciągających i deformacyjnych dla grup: CH_3 , CH_2 i CC, które potwierdzają obecność łańcucha alkilowego w badanym związku.



Rys. 24. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P2.

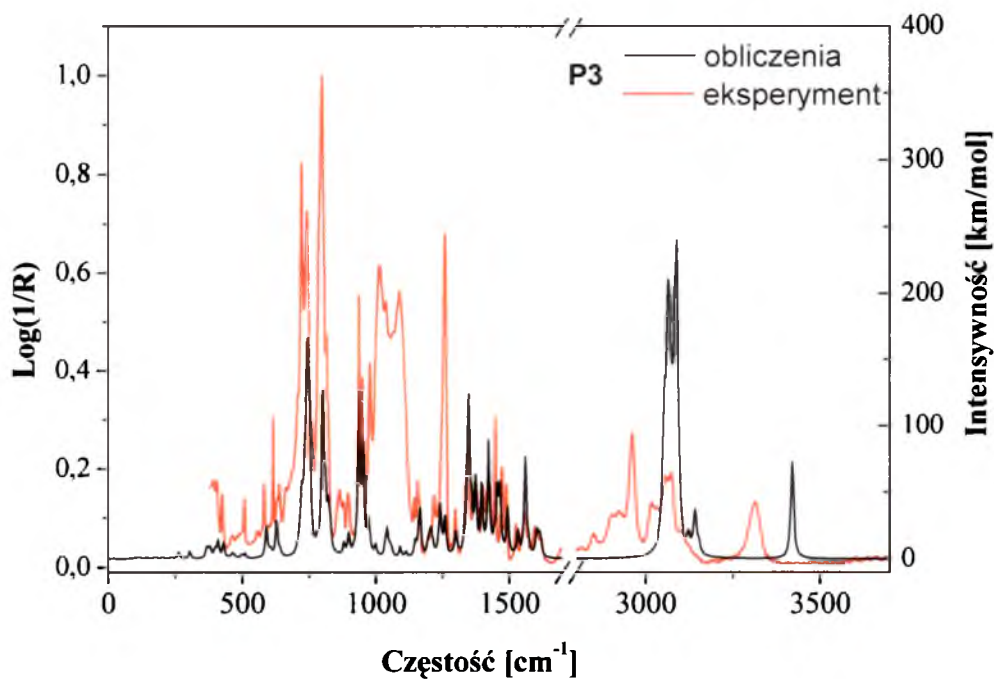
Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensywność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3420	62.7	254	3319.8 vw	vN-H
3146	14.4	92	3071.3 vw	vC _β -H (v 31)
3039	79.0	77	2962.1 vw	vC _{py} H (v 20a)
1754	397.4	1216	1721.4 vw	vC=O
1608	109.4	1390	1599.5 w	vC _{ph} C _{ph} (v 8a)
1592	65.7	292	1592.2 w	vC _{py} C _{py} (v 8a)
1591	233.1	86		
1590	77.7	474		
1562	86.7	210	1562 vw	vC _α -C _m (v 37a)
1559	8.5	31		vC _β -C _β (v 2)
1548	9.2	147	1542.4 s	vC _{py} C _{py} (v 8b)+ vC _α -C _m (v 19)
1545	35.3	138		vC _{py} C _{py} (v 8b)

1464	54.6	18	1474 vw	$\nu_{C_{\beta}-C_{\beta}}$ (v 38b)
1410	34.6	9	1405.8 w	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v 19b)
1405	43.0	47		$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v 18b)
1396	46.6	364	1369.8 vw	$\nu_{C_{\alpha}-C_m}$ (v 39b)
1356	198.4	143	1352 vw	$\delta H-O + \nu_{C_{ph}C_{ph}}$ (v19a)
1350	46.9	349	1343.3 vw	ν (pyr q-r) (v40b)+ $\delta H-O$
1310	3.1	112	1318 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v19)
1308	1.8	189	1309.4 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v19)
1274	4.4	329	1285.7 vw	ν (pyr h-r) (v41b)
1249	20.2	66	1259.9 w	$\nu C_{py}C_{py}$ (v14)
1245	0.7	18	1242.8 vw	ν (pyrrole h-r) (v41a)
1237	1.1	188		$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v14)
1224	0.3	1150	1230 vw	δC_m-H (v13)
1218	8.8	51	1212 vw	$\delta C_{py}H$ (v9a)
1216	2.1	29		$\delta C_{\beta}-H$ (v51a)
1208	1.7	122		$\delta C_{\beta}-H$ (v51b)
1192	57.5	184	1188.7 vw	$\delta CH + \delta H-O + \nu C-O$
1187	87.4	89		$\delta N-H$
1167	253.1	285	1176.7 vw	$\delta CH + \delta H-O + \nu C-O$
1167	28.9	119	1156.3 vw	δC_m-H (v42b)
1131	12.0	170	1138 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v34)
1110	1.6	32	1091.5 vw	δCH
1082	188.0	126	1068.6 vw	$\delta C_{py}H$ (v18b)
1079	3.3	14	1043.6 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v17)
1021	30.4	35	1018.8 vw	$\delta C_{ph}H$ (v18a)
1005	13.7	31	998 vw	ν (pyr breaf) (v6)
975	24.7	127	981.3 vw	ν (pyr breaf) (v47b)
962	22.3	41	969.7 w	ν (pyr breaf) (v15)
886	17.4	44	883.3 vw	δ (pyr def) (v48a) + $\gamma C_{py}H$ (v17b)
861	6.0	8	870.1 vw	$\gamma C_{py}H$ (v17b)

804	162.6	2	797 m	γ (pyr fold)
791	31.3	20	784.9 vw	$\gamma C_{py}C_{py}$ (v11)
765	40.4	35	765.5 vw	$\delta O-H$
759	29.1	3	746.6 vw	$\gamma C_{py}H$ (v10b) + $\gamma C_{\alpha}-C_m$ + $\gamma N-H$
749	16.1	3		$\gamma N-H$
747	19.6	2		$\gamma N-H$ + $\delta (C_{ph}C_{ph})$
744	2.0	1		$\gamma (C_{py}C_{py})$
739	12.0	11		$\gamma N-H$ + $\delta C_{py}C_{py}$ + $\gamma C_{\beta}-H$
709	13.2	3	709.7 vw	$\gamma C_{\beta}-H$ + $\gamma N-H$
705	17.9	5		γCH (v4)+ $\gamma O-H$
645	38.8	13	646.7 vw	$\delta C_{py}C_{py}$ (v6b)

Tab. 9. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P2.

Analiza porównawcza doświadczalnych i teoretycznych widm podczerwonych dla próbki P2 (Tabela 9) wykazała podobnie jak dla związku P1 obecność charakterystycznych drgań rozciągających oraz deformacyjnych dla makrocyklu porfirynowego. Stwierdzono również występowanie pasm absorpcji odpowiadających oscylacjom podstawników pirydylowych i fenyłowych. W cząsteczce porfiryny P2 występuje wiązanie estrowe, którego obecność w widmie podczerwieni potwierdza pojawienie się drgania rozciągającego C=O o częstości około 1721 cm^{-1} oraz drgań deformacyjnych C-O (1176 cm^{-1}) i O-H (1352 cm^{-1} , 1188 cm^{-1} , 765 cm^{-1}).



Rys. 25. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P3.

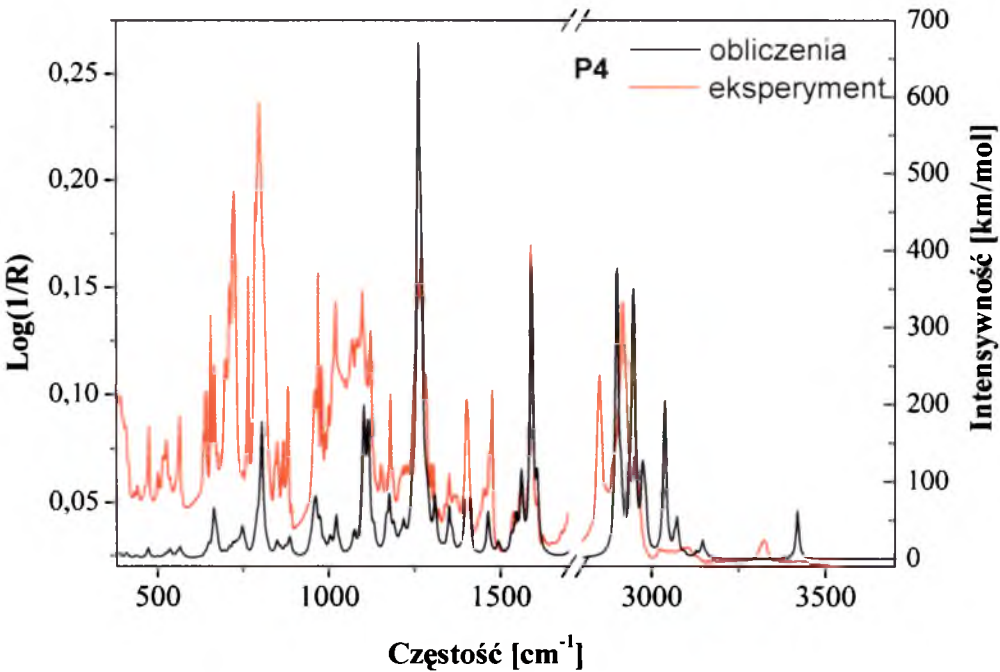
Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensywność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3420	73	1572	3315,2 vw	νNH_{as}
3142	37	3567	3100,3 vw	$\nu\text{C}_{\beta}\text{-H}$ (ν_{31})
3122	22	1634		$\nu\text{C}_{\beta}\text{-H}$ (ν_{31})
3088	240	2762	3076,5 w	$\nu\text{C-H}_{\text{phen}}$
3064	211	2379	3059,8 vw	$\nu\text{C-H}_{\text{phen}}$
3054	137	2406	3015,8 w	$\nu\text{C-H}_{\text{phen}}$
1618	18	5988	1622,9 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}}$
1612	22	7495	1610,2 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}} + \delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1602	23	2860	1597,1 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}}$
1574	17	2345	1586,9 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}}$
1568	26	4015	1573,5 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}}$
1560	77	6290	1561 vw	$\nu\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\beta}$ (ν_{38a})
1562	68	7555	1554,7 vw	$\nu\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\beta s}$ (ν_2)
1532	22	1585	1526,3 vw	$\nu\text{C-C}_{\text{phen}}$
1506	8	1266	1496 vw	$\nu\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\beta}$ (ν_{11})
1494	39	1188	1491,9 w	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1464	59	877	1474,2 w	$\nu\text{C}_{\alpha}\text{-C}_m$ (ν_{37b})
1458	48	1198	1457,2 vw	$\nu\text{C}_{\alpha}\text{-C}_m$ (ν_{28})

1454	58	1775	1449.5 m	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1448	31	2677	1448.3 vw	$\nu\text{C}_{\beta}-\text{C}_{\beta} + \delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1444	27	3044	1445.1 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1436	20	1486	1429.8 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$ vpyrrole h-r (v4)
1422	89	1926	1418.8 w	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1396	58	15345	1401.4 w	$\nu\text{C}_{\alpha}-\text{C}_{\text{m}}$ (v39b)
1374	63	5355	1381.8 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}} + \delta\text{NH}_{\text{as}}$
1372	60	4590	1368.6 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1358	56	1686	1352.6 vw	vpyrrole h-r (v51a)
1348	124	2955	1344.9 w	vpyrrole h-r (v40b)
1342	70	3717	1337.2 vw	vpyrrole h-r (v41a)
1298	21	2368	1298.7 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1260	33	3090	1259.2 s	$\nu\text{C}_{\beta}-\text{H} + \delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1242	42	1015	1251 m	vpyrrole h-r (v42a)
1206	24	894.6	1218.8 vw	$\nu\text{C}_{\beta}-\text{H}$ (v51a)
1196	17	552	1196.7 vw	$\nu\text{C}_{\beta}-\text{H} + \delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1166	38	7004.5	1166.3 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
1148	15	818.6	1146.5 vw	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}} + \delta\text{NH}_{\text{as}}$
1112	6	1819.5	1115.5 w	$\delta\text{C}_{\text{m}}-\text{H}$ (v42b)
1090	10	1653.5	1089.2 m	ν (pyr q-r) (v40b)
1052	13	2121.5	1068.4vw	$\delta\text{C}_{\beta}-\text{H}$ (v52b)
1056	11	1533	1054.6 w	$\delta\text{C}_{\beta}-\text{H}$ (v52a)
1041	24	969	1041.7 m	$\delta\text{C-H}_{\text{phen}}$
978	22	1796	1003.3 w	ν (pyr h-r) (v44b)
972	33	1094.9	979.4 m	ν (pyr breaf) (v47a)
952	88	928.7	951.5 m	ν (pyr breaf) (v47b)
936	123	202.7	938.8 s	ν (pyr h-r) (v44a)
916	12	144	902.5 vw	$\gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H}$
898	29	118.7	896.4 vw	$\gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H} + \gamma\text{C}_{\beta}-\text{H}$
880	13	463	864.8 vw	δ pyrr def (v48a)
822	47	349.5	817.3 m	$\gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H}$
812	65	993.8	819 vw	δ pyrr def (v46a)
804	105	282	807.2 w	$\gamma\text{C}_{\beta}-\text{H} + \gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H}$
802	127	282.4	799.5 vs	$\gamma\text{C}_{\beta}-\text{H}$ (γ 5)
752	124	1661.6	790. vw	$\gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H}$
750	133	1354.7	762.6 vw	$\gamma\text{N}-\text{H}$ s
744	166	560.9	744.1 s	$\gamma\text{C}_{\text{phen}}-\text{H}$ (s)

736	12	200.6	726.1 w	δ pyrr def (v24)
722	59	508.2	721.6 s	δ pyrr def (v46b)
720	51	503.1	717.4 w	γ C _{phen} -H + δ NH as
708	16	722.3	711.6 w	γ C _{phen} -H + γ C _{phen} -C _{phen}
642	10	285.7	640.4 vw	γ (pyr fold)
628	29	228.5	616.9 w	δ C _{phen} -C _{phen}
590	24	160.88	586.2 vw	δ C _{phen} -C _{phen} + δ C _{phen} -C _{phen}
510	4	636.1	508.6 vw	γ C _{β} -H + γ C _{α} -C _m
464	5	78.8	464 vw	γ NH + γ C _{α} -C _m + δ C _{phen} -C _{phen}
410	14	180.5	407.7 vw	δ C _{phen} -C _{phen} + δ C _{phen} -C _{phen}
398	9	129.3	393.6 vw	pyr rot (v49) + δ C _{phen} -C _{phen}

Tab. 10. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P3.

Na podstawie zestawienia danych eksperymentalnych i symulacji DFT dla porfiryny P3 przyporządkowano charakterystyczne dla pierścienia porfirynowego pasma drgań w zakresie podczerwieni. Cząsteczkę P3 cechuje obecność czterech podstawników fenantrenowych, dla których przyporządkowano odpowiednie drgania rozciągające: C-H ($1376 - 1315 \text{ cm}^{-1}$) i C-C ($1622 - 1573 \text{ cm}^{-1}$). Dodatkowo stwierdzono obecność drgań deformacyjnych: w płaszczyźnie pierścienia fenantrenowego: C-H ($1449 - 1041 \text{ cm}^{-1}$) oraz poza płaszczyzną tego pierścienia: C-H ($902 - 744 \text{ cm}^{-1}$) i C-C (711 cm^{-1}).



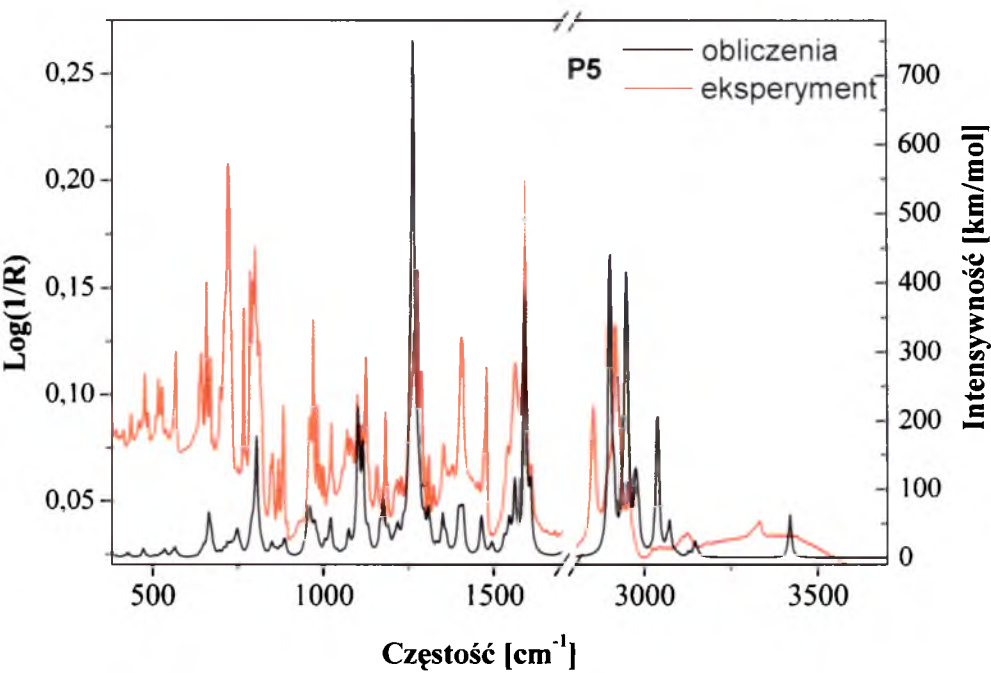
Rys. 26. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P4.

Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensyność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3420	63	1466	3324 vw	vN-H _{as}
3146	24	1434	3178 vw	vC _β -H (v14)
3128	11	1346	3132 vw	vC _β -H
3092	10	383	3100 vw	vC-H ph (v2)
3072	55	1216	3058 vw	vC-H py (v 20a)
3038	205	1258	3032 vw	vC-H py (v 20a)
2974	128	155	2952 vw	v _{as} CH ₃
2946	349	109	2918 s	v _{as} CH ₂
2900	377	1010	2851 m	v _{sym} CH ₂
1730	272	1043	1720 s	vCO
1624	17	221	1626 vw	vC _{ph} C _{ph} (v 8a)
1606	118	1942	1609 vw	vC _{py} C _{py} (v8a)
1590	379	1174	1590 m	vC _{py} C _{py} (v9a)
1562	116	3464	1561vw	vC _{ph} C _{ph} (v8a)
1546	61	605	1539 vw	vC _β -C _β (v38a)
1464	62	496	1472 m	v (pyrrole h-r) (v12)+ δ _s CH ₂
1454	17	566	1453 w	vC _b -C _m (v28)
1404	78	295	1403 w	vC _{py} C _{py} (v18b)
1360	39	1116	1368vw	v (pyrr q-r) (v40b)
1352	64	758	1352 vw	v (pyrr q-r) (v41b)
1350	69	756		v (pyrr h-r) (v41a)
1310	83	578	1308 w	vC _{ph} C _{ph} (v3)
1288	105	311	1283 m	δ _r CH ₂
1270	411	359	1271 s	δ _r CH ₂
1260	671	420	1261 m	δ _r CH ₂
1238	74	626	1236 vw	δ _r CH ₂
1218	53	758	1216 vw	δC _β -H (v51a)
1188	49	203	1187 w	δC _β -H (v51a)
1176	85	208	1180 w	δC _{ph} -H (v 8a)
1114	180	167	1122 m	δC _{ph} -H (v 19a)
1102	199	251	1099 m	δC _{ph} -H (v 19b)
1074	38	458	1067 m	δC _β -H (v52a)
1022	57	126	1021m	δC _{ph} -H (v19a)
1004	31	194	999 w	v (pyr h-r) (v 44b)
974	56	339	980 m	(v pyr breat) (v 47b)

974	56	339	970 s	$\gamma C_{py}H$ (v 17a)
960	81	188	959 w	(v pyr breat) (v 15)
886	29	324	883 w	δ pyr def (v48a)
860	16	75	866 w	$\gamma C_{ph}H$ (v 17b)
848	24	225	849 w	$\gamma C_{py}H$ (v 17b)
804	177	83	797 s	$\gamma C_{\beta}H + \gamma NH$
780	24	41	786 m	γCH_2
720	22	21	724 s	γNH
710	16	22	711m	$\delta_r CH_2$
694	11	26	698 w	γ (pyr fold)
672	42	177	667 w	$\nu C_{py}C_{py}$ (v6a)
664	66	145	657 m	$\nu C_{py}C_{py}$ (v6a)
650	22	56	641 w	$\nu C_{py}C_{py}$ (v6a)
564	16	22	565 w	$\gamma C_p C_p$ (v 16b) + γ (pyr fold)
534	12	15	527 w	$\gamma C_p C_p$ (v 16b) + γCH_2
524	7	25	516 w	$\gamma C_p C_p$ (v 16b)
498	3	13	501vw	$\gamma C=O_{ester\ gr} + \gamma CH_2$
472	13	44	475 w	$\gamma C=O_{ester\ gr} + \gamma CH_2$
436	4	20	442 vw	pyr rot v25
406	7	66	408 vw	pyr rot v33
390	6	31	392 vw	γCH_{2alkil}

Tab. 11. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P4.

Dla cząsteczki związku P4 zidentyfikowane zostały typowe dla pierścienia porfirynowego drgania rozciągające i deformacyjne. Ponadto przypisano pasma odpowiadające osydlacjom pierścieni pirydylowych i pierścienia fenylowego. Zidentyfikowano drganie rozciągające pomiędzy węglem i tlenem grupy estrowej położone przy częstości 1720 cm^{-1} oraz drgania deformacyjne $C=O$ (501 i 475 cm^{-1}). Zanotowano również obecność częstości drgań charakterystycznych dla składowych łańcucha alkilowego t.j.: rozciągające drgania CH_3 (2952 cm^{-1}) i CH_2 (2918 i 2851 cm^{-1}) oraz drgania deformacyjne CH_2 ($1283 - 1236\text{ cm}^{-1}$; 786 cm^{-1} ; 711 cm^{-1} ; 392 cm^{-1}).



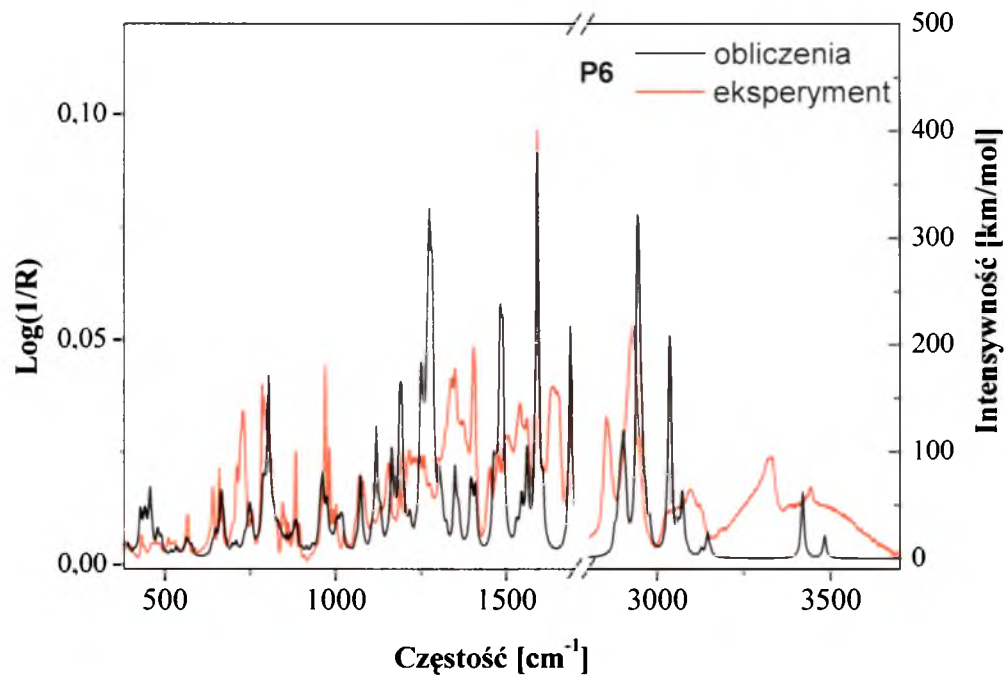
Rys. 27. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P5.

Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensyność częstosci teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3420	63	1682	3331 vw	ν N-H _{as}
3146	24	1064	3178 vw	ν C _{β} -H (ν 14)
3128	11	1370	3123 vw	ν C _{β} -H
3092	10	383	3112 vw	ν C _{ph} -H (ν 2)
3072	55	1254	3043 vw	ν C _{py} -H (ν 20a)
3038	206	2154	3023 vw	ν C-H py (ν 20a)
2974	131	151	2951 vw	ν _{as} CH ₃
2944	357	113	2915 m	ν _{as} CH ₂
2900	440	1153	2851 w	ν _{sym} CH ₂
1730	272	3717	1719 s	ν CO
1606	118	1775	1609 w	ν C _{py} C _{py} (ν 8a)
1590	379	1021	1590 s	ν C _{py} C _{py} (ν 9a)
1562	116	1911	1561 m	ν C _{ph} C _{ph} (ν 8a)
1546	61	517	1539 w	ν C _{β} -C _{β} (ν 38a)
1464	62	547	1477 m	ν (pyr h-r) (ν 12) + δ _s CH ₂
1454	17	566	1453 vw	ν C _b -C _m (ν 28)
1404	78	314	1403 m	ν C _{py} C _{py} (ν 18b)

1360	40	1098	1376 vw	v (pyrr q-r) (v40b)
1352	61	862	1351 w	v (pyrr q-r) (v41b)
1350	66	859		v (pyr h-r) (v41a)
1308	75	547	1308 w	$\nu_{C_{ph}C_{ph}}$ (v3)
1286	107	328	1286 w	δ_rCH_2
1270	307	357	1274 m	δ_rCH_2
1262	750	501	1266 m	δ_rCH_2
1218	53	916	1216 w	$\delta C_{\beta}-H$ (v51a)
1188	50	189	1187 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v51a)
1176	85	169	1180 w	$\delta C_{ph}-H$ (v8a)
1116	171	124	1123 w	$\delta C_{ph}-H$ (v19a)
1104	205	136	1099 w	$\delta C_{ph}-H$ (v19b)
1074	43	352	1078 w	$\delta C_{\beta}-H$ (v52a)
1022	58	163	1022 w	$\delta C_{ph}-H$ (v19a)
1004	27	189	999 vw	v (pyr h-r) (v 44b)
984	34	536	980 vw	v (pyr h-r) (v 47b)
974	55	275	970 m	$\gamma C_{py}H$ (v 17a)
958	81	188	958 w	v pyrrole breath (v 15)
886	29	112	882 w	δ pyrr def (v48a)
860	18	197	866 vw	$\gamma C_{ph}H$ (v 17b)
848	24	336	848 vw	$\gamma C_{py}H$ (v 17b)
804	177	58	798 s	$\gamma C_{\beta}H + \gamma NH$
790	60	169	792 s	γCH_2
784	37	115	784 s	$\gamma C_{\beta}H$
720	22	21	724 m	γNH
710	16	37	711 vs	δ_rCH_2
694	11	30	698 w	γ (pyr fold)
670	47	155	667 m	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v6a)
664	66	118	657 s	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v6a)
650	22	78	640 m	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v6a)
564	16	21	567 m	$\gamma C_p C_p(v16b) + \gamma$ (pyr fold)
534	12	28	526 w	$\gamma C_p C_p(v16b) + \gamma CH_2$
524	7	24	516 w	$\gamma C_p C_p(v16b)$
504	4	19	508 w	$\gamma C=O_{ester\ gr} + \gamma CH_2$
472	13	51	476 w	$\gamma C=O_{ester\ gr} + \gamma CH_2$
426	8	14	435 w	pyr rot v25
412	3	60	412 vw	pyr rot v33
384	7	72	392 vw	γCH_{2alkil}

Tab. 12. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P5.

Interpretacja widm podczerwonych dla związku P5 jest bardzo podobna jak dla związku P4. Związki te różnią się długością łańcucha alkilowego. W analizie widm poczerwieni P5 obserwowane są jedynie niewielkie przesunięcia w częstościach niektórych drgań w stosunku do związku poprzedniego.



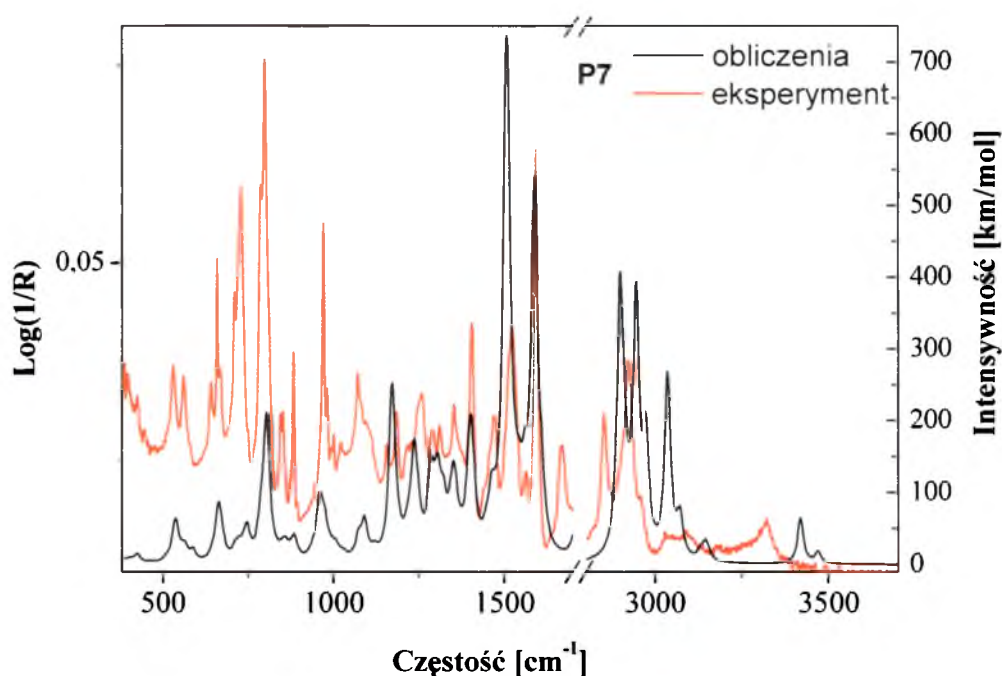
Rys. 28. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P6.

Częstość teoretyczna [cm ⁻¹]	Intensyność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm ⁻¹]	Opis
	IR	Raman		
3484	21	256	3442 vw	vN-H _{amid}
3420	62	3547	3315 vw	vN-H _{as}
3146	24	936	3124.8 vw	vC _β -H (v14)
3128	11	1130	3094 vw	vC _β -H
3092	9	284	3057 vw	vC-H _{ph} (v2)
3072	63	1127	3024 vw	vC-H _{py} (v20a)
3036	208	4001	2941.8 vw	vC-H _{py} (v20a)
2944	322	1130	2930 s	vCH _{cyklohex}
2902	120	2962	2863w	vCH _{cyklohex}
1720	297	979	1716 w	vCO _{amid}

1688	217	878	1699 m	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v8a)
1588	300	1091	1591 vs	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v9a)
1562	106	2022	1559 w	$\nu_{C_{ph}C_{ph}}$ (v8a)
1546	61	605	1539 w	$\nu_{C_{\beta}-C_{\beta}}$ (v38a)
1484	238	296	1475 w	$\delta CH_{cyklohex}$
1464	100	505		ν (pyrrole h-r) (v12)
1406	60	358	1403 m	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v18b)
1360	54	1704	1373 w	ν (pyr q-r) (v40b)
1350	88	2153	1349 m	ν (pyr q-r) (v41b)
1304	87	373	1303 vw	$\nu_{C_{ph}C_{ph}}$ (v3) + $\delta_r CH_{cyklohex}$
1276	328	459	1274 vw	$\delta_s CH_{cyklohex}$
1250	74	626	1248 vw	$\delta_s CH_{cyklohex}$
1216	45	572	1215 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v51a)
1192	166	330	1186 vw	$\delta C_{\beta}-H$ (v51a)
1166	104	404	1154 vw	$\delta C_{ph}-H$ (v8a)
1130	54	176	1130 vw	$\delta CH_{cyklohex}$
1018	43	152	1023 vw	δNC
1004	31	194	1000 vw	ν (pyrrole h-r) (v 44b)
974	58	563	969 m	$\gamma_{C_{py}H}$ (v 17a)
962	81	374	959 w	ν (pyr breaf) (v 15)
902	11	171	892 vw	$\gamma CH_{cyklohex}$
884	35	407	882 w	δ (pyr def) (v48a)
858	23	221	861 vw	$\gamma_{C_{ph}H}$ (v 17b)
802	146	128	800 m	$\gamma_{C_{\beta}H} + \gamma_{NH}$
790	80	218	788 w	$\gamma_{C_{py}H} + \gamma CH_{cyklohex}$
748	53	91	755 vw	$\gamma_{C_{\beta}H}$
734	26	88	728 w	γ_{NH}
708	17	64	709 vw	γ (pyr fold)
698	14	37	695 vw	γ (pyr fold)
666	64	173	667 vw	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v6a)
648	27	115	639 vw	$\nu_{C_{py}C_{py}}$ (v6a)
564	20	34	565 vw	$\gamma_{C_pC_p}(v16b) + \gamma$ (pyr fold)
532	11	43	527 vw	$\gamma_{C_pC_p}(v16b)$
518	8	89	515 vw	$\gamma_{C_pC_p}(v16b)$
488	23	27	503 vw	$\gamma_{NH_{cyklohex}}$
478	29	29	475 vw	$\gamma_{NH_{cyklohex}}$
428	48	36	430 vw	pyr rot (v25)
390	15	59	398 vw	$\gamma_{CO} + \gamma CH_{cyklohex}$

Tab. 13. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P6.

Analiza drgań makrocyklu porfirynowego oraz podstawników pirydylowych dla związku P6 przedstawia się podobnie jak dla poprzednich próbek. Dla pochodnej mocznikowej zidentyfikowano drgania charakterystyczne dla pierścienia fenyłowego oraz drgania rozciągające wiązania C-H w pierścieniach cykloheksanu (2930 i 2863 cm^{-1}) oraz C=O grupy amidowej (1716 cm^{-1}). Przypisano również deformacyjne drgania C-H zarówno w płaszczyźnie jak i poza płaszczyzną cyklohekanu, a także deformacje wiązań NH i CO części mocznikowej.



Rys. 29. Porównanie widm podczerwieni uzyskanych eksperymentalnie z widmami teoretycznymi próbki P7.

Częstość teoretyczna [cm^{-1}]	Intensyność częstości teoretycznej		Częstość doświadczalna [cm^{-1}]	Opis
	IR	Raman		
3470	19	3289	3349 vw	$\nu\text{N-H}_{\text{amid gr}}$
3420	65	2442	3320 vw	$\nu\text{N-H}_{\text{as}}$
3146	35	1480	3179 vw	$\nu\text{C}_{\beta}\text{-H}$ (ν_{14})
3136	30	912	3134 vw	$\nu\text{C}_{\text{py}}\text{-H}$ (ν_2)
3082	46.7	323	3098 vw	$\nu\text{C}_{\text{py}}\text{-H}$ (ν_{20b})
3070	81.2	826.6	3070 vw	νC_{py} (ν_{20a})
3036	268.6	2224	3032 vw	νC_{py} (ν_{20a})

2972	213	338	2956 v	$\nu_{as}CH_3$
2946	394	119.2	2921 m	$\nu_{as}CH_2$
2900	407.5	2416	2851 m	$\nu_{sym}CH_2$
1720	162.9	4187	1724 v	$\nu CO + \delta NH$
1590	540	1299	1592 vs	$\nu C_{py}C_{py}$ (v9a)
1562	193	2068	1561 v	$\nu C_{py}C_{py}$ (v8a)
1536	191	682	1534 v	$\nu C_{\beta}-C_{\beta}$ (v38a)
1524	302	691	1522 m	$\nu C_{\beta}-C_{\beta}$ (v38b)
1508	736	681	1511 v	νC_b-C_m (v37b) + $\nu C_{ph}C_{ph}$ (v19a)
1476	136	308	1472 m	νC_b-C_m (v39a)
1464	130.5	664.4	1460 v	νC_b-C_m (v39b) + $\nu C_{py}C_{py}$ (v18a)
1448	84.6	1535.4	1455 vw	νC_b-C_m (v28)
1402	209	568.3	1403 m	$\nu C_{ph}C_{ph}$ (v18b)
1360	120	1001	1362 vw	ν (pyrrole h-r) (v12)
1350	142.8	946	1352 v	ν (pyrrole q-r) (v40b)
1352	144.5	939		ν (pyrrole h-r) (v41a)
1306	155	647	1309 v	$\delta_i CH_2$ (v3)
1286	158.8	1038	1289 v	$\delta_r CH_2$
1238	174	1271	1247 vw	$\delta_r CH_2$
1172	253	917	1184 v	$\delta_r CH_2$
1090	68	171	1094 v	$\delta C_{\beta}H$ (v52a)
1074	51	584	1070 m	$\delta C_{\beta}H$ (v17)
1000	38	344	999 vw	ν (pyr breaf) (v47b)
974	82	485	980 v	$\gamma C_{py}H$ (v 17a)
962	101	215	970 s	$\gamma C_{py}H$ (v 17b)
900	22	97	893 vw	ν (pyr breaf) + δCH_2
884	42.5	289.7	882 m	δ (pyr def) (v48a)
858	39	99	851 v	$\gamma C_{ph}H$ (v 17b)
848	36	134	844 v	$\gamma C_{py}H$ (v17b) + γCH_2
804	211	101	798 vs	$\gamma C_{\beta}H$ + $\gamma C_{py}C_{py}$ (v6a)
786	97	180	786 vs	γNH + CH_2
746	59	67	728s	γCH_2 + $\gamma C_{py}C_{py}$ (v4) + γNH
714	35	75	710 s	$\delta_r CH_2$
676	53	162	669 vw	γ (pyr fold)
668	81	253	666 vw	γ (pyr fold) + γNH
664	87	289	658 m	$\nu C_{py}C_{py}$ (v6a)
642	26	93	640 v	γ (pyr fold)
636	19	63	635 vw	$\nu C_{ph}C_{ph}$ (v6a)
588	23.9	326	582 vw	γNH_{amid} + γCH_2

562	33	104	560 v	$\gamma C_p C_p(v16b) + \gamma CC_{porf}$
546	46	59	542 vw	$\gamma C_p C_p(v16b) + \gamma C_\beta H$
538	63.9	93	529 v	$\gamma N-H_{amid\ gr} + \gamma C_{py} C_{py}(v16b)$
424	15	55.5	424 vw	pyr rot v33 + γCH_{2alkil}

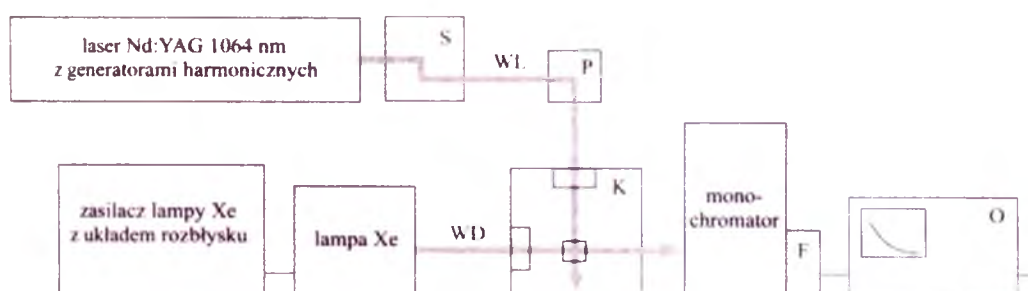
Tab. 14. Zestawienie częstości eksperymentalnych z uzyskanymi na drodze symulacji DFT dla próbki P7.

Przyporządkowanie poszczególnych pasm absorpcji w podczerwieni dla pierścienia porfirynowego i podstawników pirydylowych oraz fenyłowego w przypadku związku P7 przedstawia się podobnie jak dla porfiryn P4 i P5. W cząsteczce związku P7 występuje wiązanie amidowe, którego obecność potwierdza pasmo o częstości 3349 cm^{-1} (drganie rozciągające N-H) oraz pasmo 1720 cm^{-1} (drganie rozciągające CO), a także obecność drgań deformacyjnych N-H (1720 cm^{-1} , 582 cm^{-1} i 529 cm^{-1}). W widmie podczerwieni obecne są również drgania rozciągające i deformacyjne grup CH_3 i CH_2 , charakterystyczne dla łańcucha alkilowego.

Przypisania poszczególnych pasm absorpcji w podczerwieni dla badanych związków dokonano na podstawie zestawienia widm eksperymentalnych ze skalowanymi widmami symulacyjnymi. W tym celu wykorzystano nomenklaturę zaproponowaną dla porfiryn przez Li, Zgierski, Czernuszewicz (Li X.Y., Zgierski M.Z., 1995; Li X.Y., Czernuszewicz R.S. i inni 1989). Dla wszystkich związków zidentyfikowano charakterystyczne drgania rozciągające N-H w makrocyklu porfirynowym, których wartości częstości odpowiadają doniesieniom literaturowym (Dolphin D. Volume III, 1978). Stwierdzono również obecność pasm absorpcji odpowiadających drganiom wiązań $C_\beta-H$, a także przyporządkowano odpowiednie drgania pomiędzy poszczególnymi atomami węgla układu porfirynowego. Zakresy częstości wspomnianych drgań zgadzają się z doniesieniami odnotowanymi w monografii Dolphina (Dolphin D. Volume III, 1978). Znaczna ilość przyporządkowanych drgań została odnotowana w literaturze dla porfiny (Li X.Y., Zgierski M.Z., 1995; Li X.Y., Czernuszewicz R.S. i inni 1989). Osylacje w podstawniach poszczególnych pochodnych porfiryn sklasyfikowano w oparciu o charakterystykę pochodnych benzenu (Varsanyi G. 1974). Położenie pasm absorpcji w podczerwieni dla grup funkcyjnych obecnych w podstawnikach badanych związków (grupy estrowe, eterowe, amidowe), a także częstości drgań w łańcuchach alkilowych zgadzają się z zakresami częstości drgań prezentowanymi w literaturze (Varsanyi G. 1974).

14. LASEROWA FOTOLIZA BŁYSKOWA

Wyniki doświadczalne uzyskano przy użyciu spektrometru LKS.60 firmy Applied Photophysics. (Pomiary wykonano w Zakładzie Chemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.) W skład aparatury pomiarowej wchodzi laser Nd: YAG, umożliwiający wygenerowanie błysku wzbudzającego o długościach fali: 532 nm, 355 nm lub 266 nm. Maksymalna energia pojedynczego błysku wynosi odpowiednio: 245 mJ, 100 mJ bądź 75 mJ, natomiast chwilowa moc błysku: 50 MW, 20 MW, 5 MW. Czas trwania impulsu to 4-6 ns, a uzyskiwana wiązka promieniowania ma średnicę 6 mm. Fotopowielacz rejestruje promieniowanie emitowane przez wzbudzony układ (luminescencja) lub zmianę absorbancji, a następnie przekazuje sygnał do oscyloskopu i komputera. W przypadku pomiaru małych zmian absorbancji stosuje się promieniowanie detekcyjne o dużym natężeniu, w celu zwiększenia stosunku sygnału fotometrycznego do szumu. Do tego celu wykorzystuje się ksenonową lampę detekcyjną, której moc wynosi 150 W, a zakres długości fali to 200 nm- 850 nm.



Rys. 30. Schemat spektrometru do laserowej fotolizy błyskowej (metoda spektrofotometrii kinetycznej). F-fotopowielacz, K-komora naświetlań z dwoma migawkami, zawierająca kuwetę z badanym układem, O-szybki oscyloskop cyfrowy, zsynchronizowany z laserem i połączony z komputerem sterującym, P-pryzmat kierujący, S-separator harmonicznymi 532 nm, 355 nm, 266 nm, WL-wiązka promieniowania laserowego, WD-wiązka detekcyjna (Karocki A., Drzewiecka-Matuszek A., Stochel G. 2009)

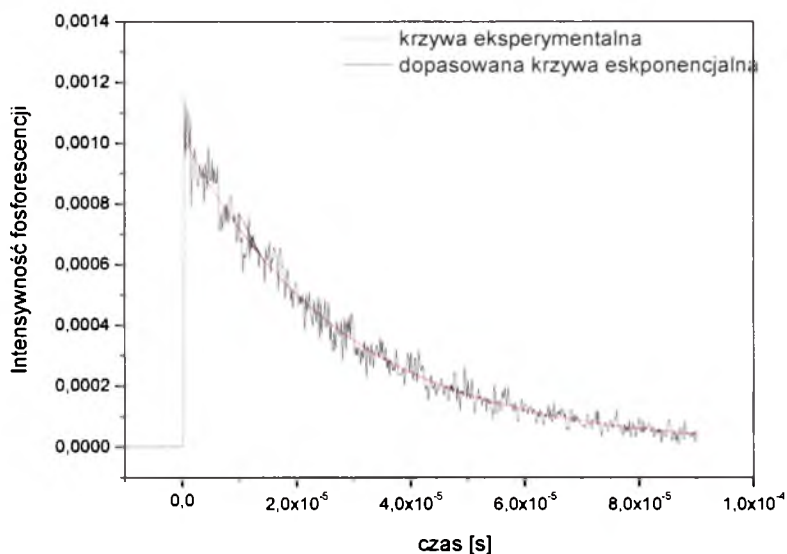
14.1. KWANTOWA WYDAJNOŚĆ TLENU SINGLETOWEGO

Do przeprowadzenia pomiarów mających na celu określenie generowania tlenu singletowego dla zsyntetyzowanych pochodnych porfiryn użyto spektrometru LKS.60 firmy Applied Photophysics.

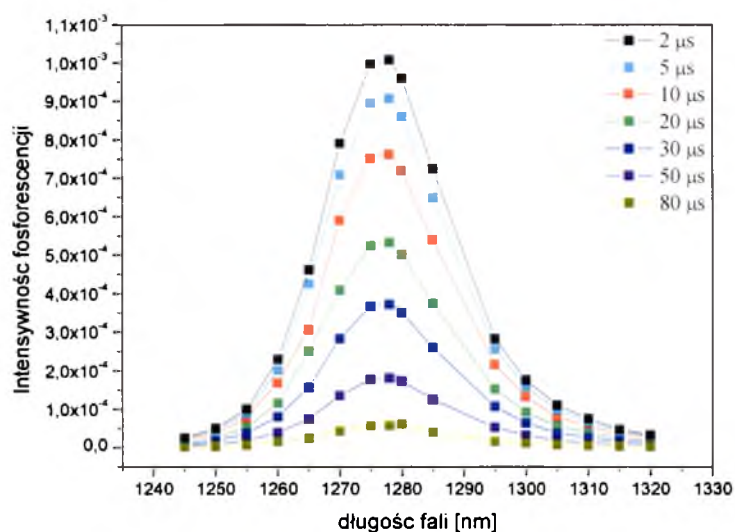
Wyznaczenia kwantowej wydajności tlenu singletowego dla siedmiu pochodnych porfiryn dokonano poprzez zastosowanie metody porównawczej względem eksperymentalnie określonej wartości bezwzględnej dla 5, 10, 15, 20-tetrafenyloporfiryny (TPP), zgodnie z procedurą obliczeniową zaproponowaną przez (Shimizu i inni, 1998). Wartość kwantowej wydajności tlenu singletowego dla próbki referencyjnej wg doniesień literaturowych wynosi 0.62. W trakcie eksperymentu roztwór TPP w toluenie o absorpcji równej 0.35 cm^{-1} wzbudzano harmoniczną o długości fali 355 nm.

W celu wyznaczenia względnej efektywności tworzenia tlenu singletowego przygotowano roztwory porfiryn w toluenie, o stężeniu opowiadającym współczynnikowi absorpcji 0.35 cm^{-1} przy długości fali 355nm. Roztwory zostały umieszczone w 1 cm kuwecie fluorescencyjnej, a następnie nasycane tlenem przez 2 minuty. Układ wzbudzano błyskiem lasera o długości fali 355 nm, a następnie rejestrowano luminescencję układu. Pomiarów powtarzano wielokrotnie tj 30 – 50 razy.

Dla tetrafenyloporfiryny zmierzono widmo emisyjne w zakresie 1245 nm – 1320 nm. Zestawiono zależności intensywności fosforescencji od czasu, dla długości fali z podanego zakresu, a następnie dokonano cięcia wzdłuż płaszczyzny prostopadłej do kierunku czasu, co umożliwiło wyznaczenie zależności intensywności fosforescencji od długości fali dla wybranych opóźnień (*Rys.32*).

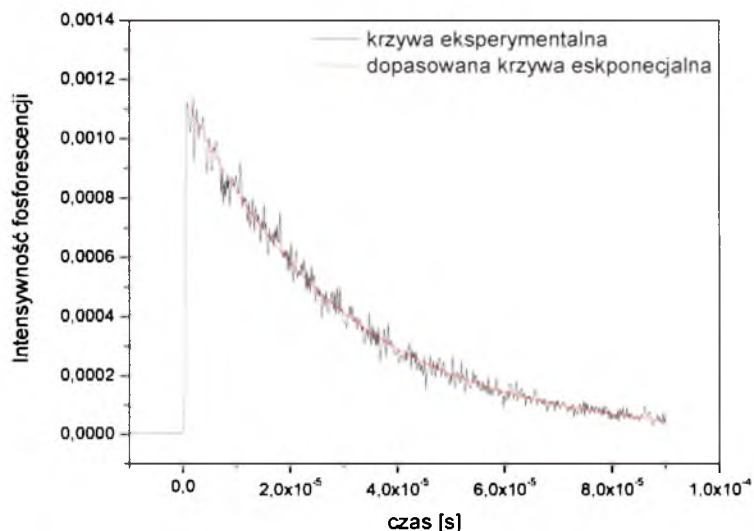


Rys. 31. Kinetyka zaniku fosforescencji tlenu singletowego dla TPP, przy długości fali 1280 nm



Rys. 32. Zależność intensywności fosforescencji od długości fali dla TPP

Dla roztworów wszystkich badanych związków zarejestrowano kinetykę zaniku fosforescencji tlenu singletowego przy długości fali 1280 nm (Rys.33). Do uzyskanych eksperymentalnie krzywych dopasowano funkcje eksponencjalne.



Rys. 33. Kinetyka zaniku fosforescencji tlenu singletowego dla P7, przy długości fali 1280 nm

Po uwzględnieniu obecności w trakcie pomiarów filtra 880 (tzw. czarnego), krzywe ekstrapolowano do wartości $t = 0$ (czas zakończenia impulsu lasera) i wyznaczono wartość początkową intensywności. Wyznaczono także pole powierzchni pod krzywymi zaniku, a następnie obliczono wartość kwantowej wydajności tlenu singletowego dla mierzonych związków (Formuła 14), gdzie jako próbkę referencyjną obrano tetrafenyloporfiryne.

$$\Phi_p = \Phi_{QBS} \left(\frac{n}{n_{QBS}} \right)^2 \left(\frac{I_{QBS}}{I} \right) \left(\frac{S}{S_{QBS}} \right) \left(\frac{1 - 10^{-A_{QBS}}}{1 - 10^{-A}} \right) \quad (14)$$

Φ_p kwantowa wydajność tlenu singletowego próbki mierzonej

Φ_{QBS} kwantowa wydajność tlenu singletowego wzorca

n współczynnik refrakcji rozpuszczalnika próbki mierzonej

n_{QBS} współczynnik refrakcji rozpuszczalnika wzorca

I wartość początkowa intensywności próbki mierzonej

I_{QBS} wartość początkowa intensywności wzorca

S pole powierzchni pod krzywą zaniku próbki mierzonej

S_{QBS} pole powierzchni pod krzywą zaniku wzorca

A absorbancja przy długości fali wzbudzenia próbki

A_{QBS} absorbancja przy długości fali wzbudzenia wzorca

Symbol próbki	Kwantowa wydajność tlenu singletowego
TPP	0,62
P1	0,61
P2	0,60
P3	0,63
P4	0,61
P5	0,61
P6	0,62
P7	0,59

Tab. 15. Zestawienie kwantowych wydajności tlenu singletowego dla badanych porfiryn oraz wzorca TPP.

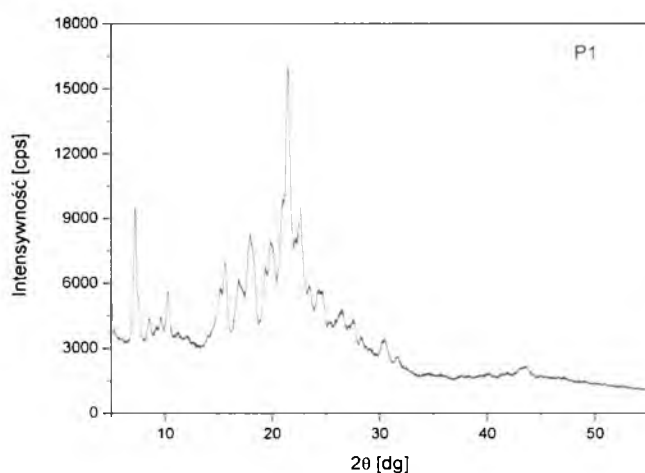
Wartości względnej efektywności generowania tlenu singletowego wyznaczone dla zsyntetyzowanych pochodnych porfiryn są zbliżone do siebie i kształtują się na poziomie około 60%. Doniesienia literaturowe wskazują, iż klinicznie stosowany Photofrin® w tych samych warunkach pomiarowych wykazuje 36% wartość kwantowej wydajności tlenu singletowego (Willkinson 1993). Uzyskane wyniki wskazują na potencjalną użyteczność prezentowanych materiałów w terapii fotodynamicznej.

15. OKREŚLENIE STRUKTURY KRYSTALICZNEJ Z WYKORZYSTANIEM METOD DYFRAKCJI RENTGENOWSKIEJ

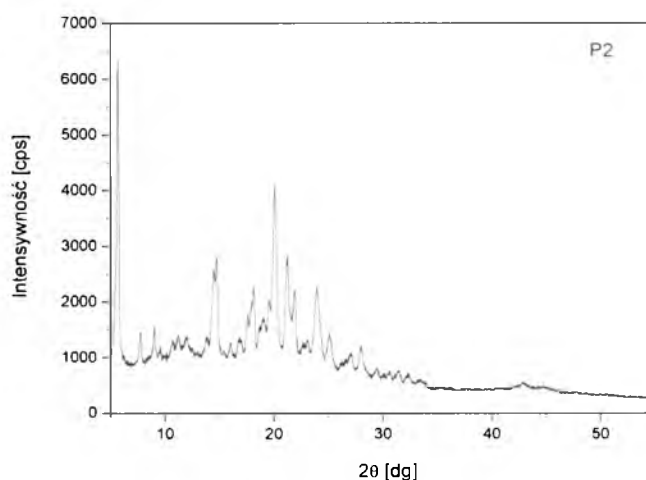
15.1. RENTGENOWSKIE BADANIA MATERIAŁÓW POLIKRYSTALICZNYCH

Wstępne pomiary strukturalne przeprowadzono na dyfraktometrze rentgenowskim do badań materiałów polikrystalicznych Siemens D5000. Próbki poddane zostały ekspozycji na filtrowane promieniowanie rentgenowskie CuK_α . Pomiary przeprowadzono w temperaturze pokojowej, w zakresie kątów 2θ od 5° do 55° (metoda skanu) z krokiem 0.02° .

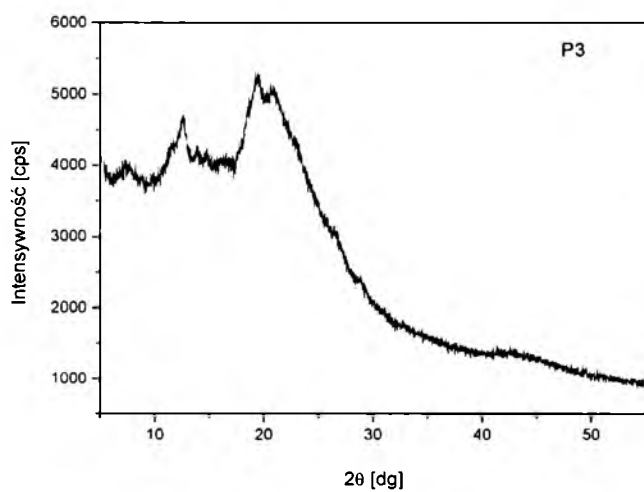
Uzyskane dyfraktogramy pozwalają stwierdzić, iż w przypadku związku P3 mamy do czynienia z materiałem o przeważającym charakterze amorficznym, natomiast reszta porfiryn wykazuje charakter mieszany amorficzno – krystaliczny. Uzyskany typ materiału wyklucza stosowanie standardowych technik krystalograficznych w toku analizy strukturalnej.



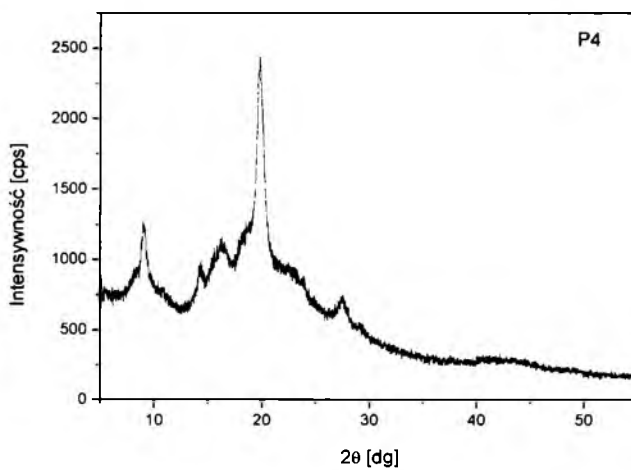
Rys. 34. Dyfraktogram dla próbki P1



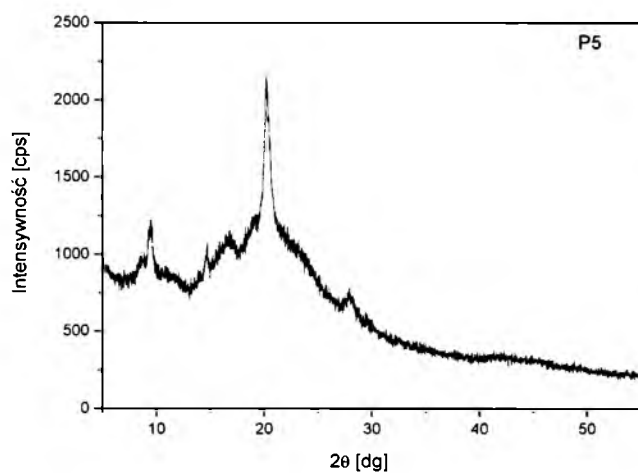
Rys. 35. Dyfraktogram dla próbki P2



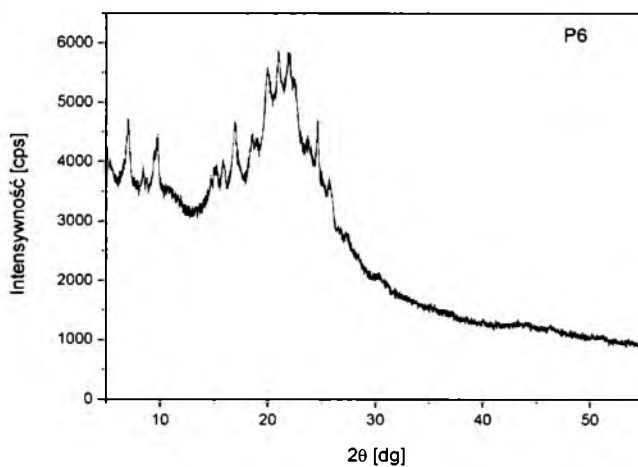
Rys. 36. Dyfraktogram dla próbki P3



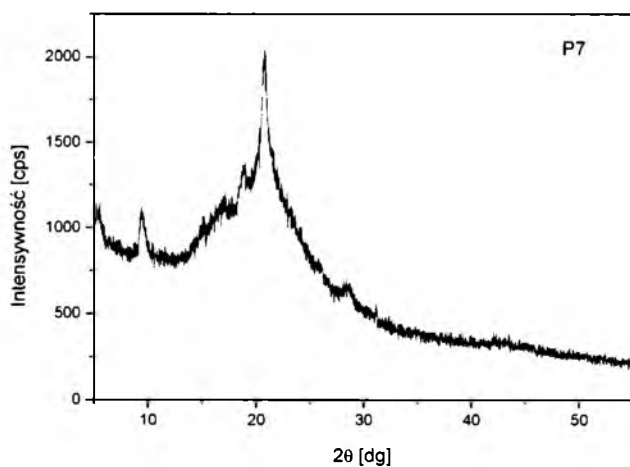
Rys. 37. Dyfraktogram dla próbki P4



Rys. 38. Dyfraktogram dla próbki P5



Rys. 39. Dyfraktogram dla próbki P6

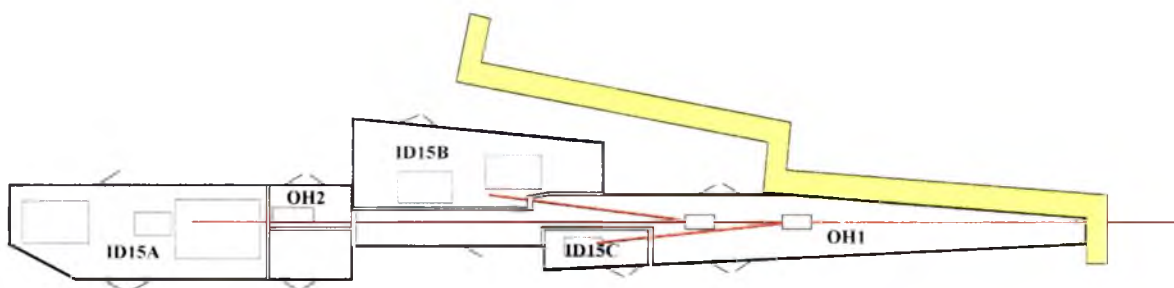


Rys. 40. Dyfraktogram dla próbki P7

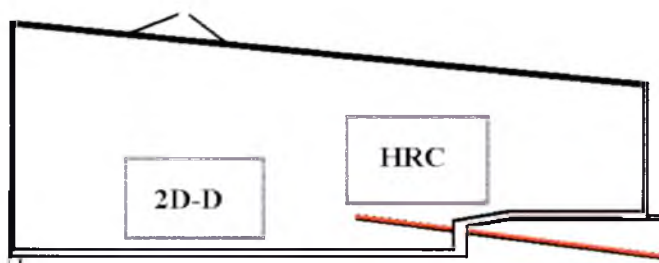
15.2. POMIARY Z ZASTOSOWANIEM PROMIENIOWANIA SYNCHROTRONOWEGO

Pomiary rentgenowskie z wykorzystaniem promieniowania synchrotronowego przeprowadzono w European Synchrotron Radiation Facility, w Grenoble .

Eksperyment przeprowadzono na linii pomiarowej ID15B (High-energy X-ray diffraction – linia wysokoenergetycznej dyfrakcji). Jest to linia charakteryzująca się wysokoenergetycznym monochromatycznym promieniowaniem o energii 90 – 100 keV.



Rys. 41. Plan linii pomiarowej ID15; OH1 i OH2 – komory optyczne

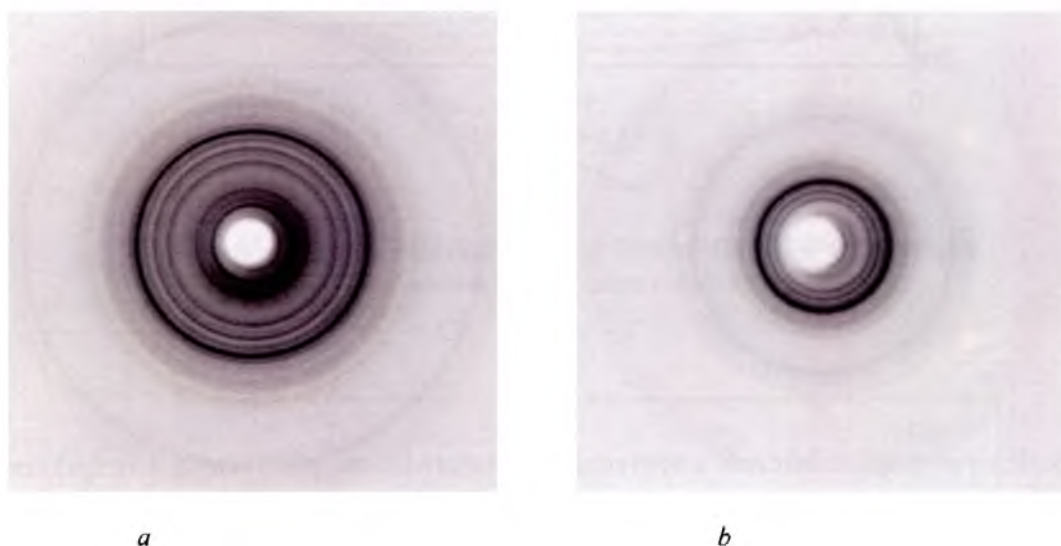


Rys. 42. Plan linii ID15B; HRC – układ do wysokorozdzielczych pomiarów rozpraszania Comptona; 2D-D – układ do dyfrakcji dwuwymiarowej wysokoenergetycznego promieniowania rentgenowskiego.

Pomiary przeprowadzono w temperaturze pokojowej, dla próbek proszkowych, umieszczonych w kapilarach wykonanych ze szkła Lindemanna (B_2O_3) o średnicy 1.5 i 2 mm. Grubość ścianek kapilar wynosiła 0.1 mm, natomiast ich długość 80 mm. Porfirynty poddane były 60s ekspozycji na promieniowanie rentgenowskie o energii 90.45 keV ($\lambda =$

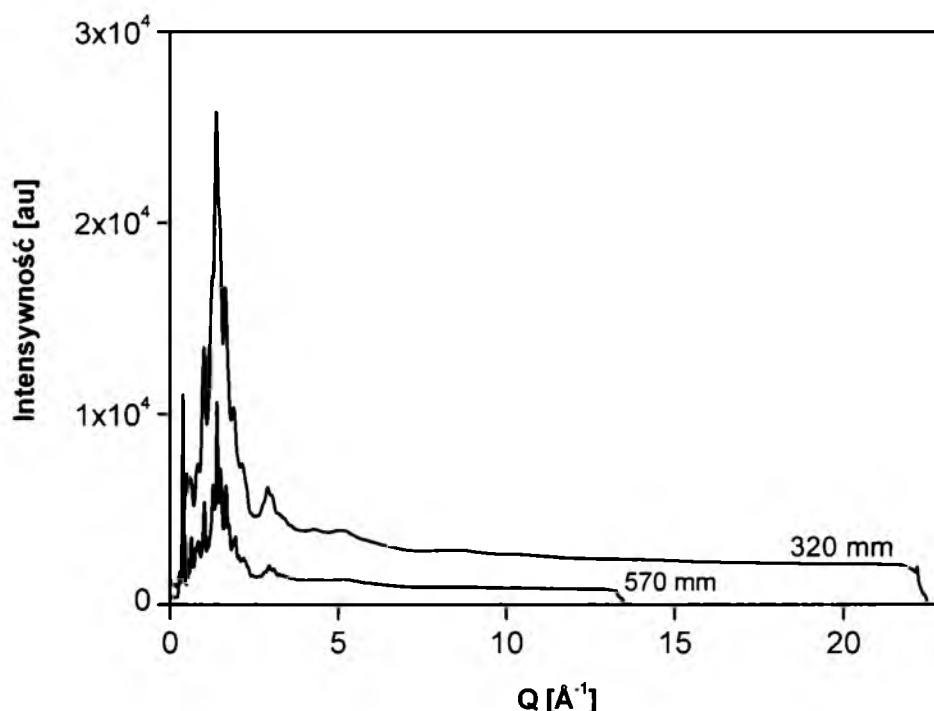
0.137 Å). Odległości próbka – detektor wynosiły odpowiednio 320 i 570 mm. Pomiar powtórzono 10 razy dla każdej z próbek. Urządzenie kalibrowano względem Al. (Hull A.W. 1917). Do rejestracji intensywności rozproszonych promieni rentgenowskich użyto dwuwymiarowej płyty obrazowej i skanera MAR o rozdzielczości 2300 x 2300 pikseli. Pojedynczy piksel miał rozmiar 0.15 mm.

W wyniku przeprowadzonego eksperymentu uzyskano dwuwymiarowe obrazy dyfrakcyjne (Rys. 43). Wszystkie obrazy mają postać ciągłych, lekko rozmytych pierścieni, co sugeruje niski stopień uporządkowania badanych materiałów.



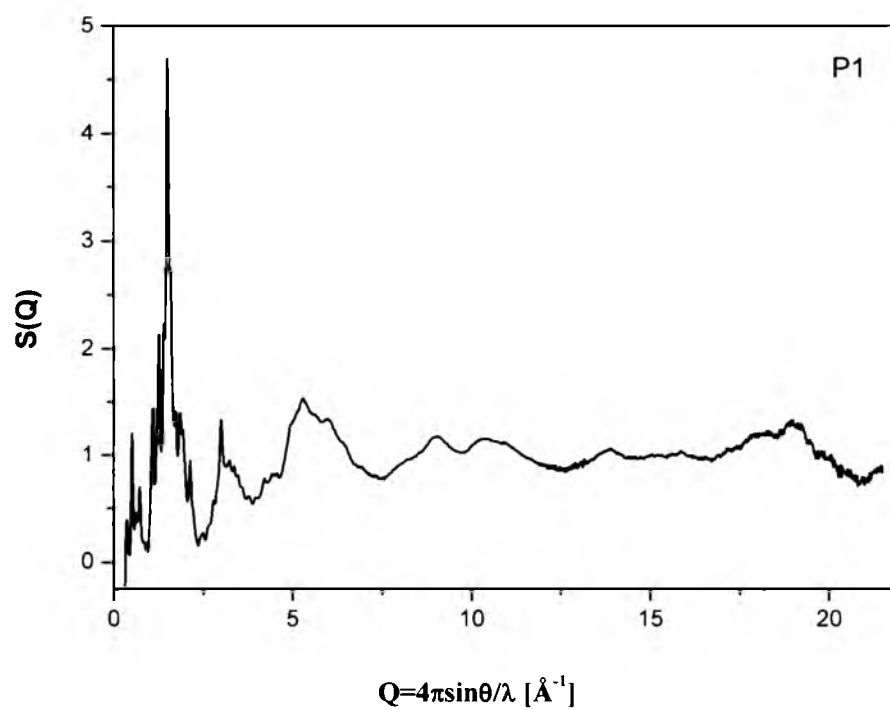
Rys. 43. Dwuwymiarowe obrazy dyfrakcyjne dla próbki P2 a) odległość próbka- detektor 570mm; b) odległość próbka- detektor 320mm

Dzięki zastosowaniu programu FIT2D, który wykorzystuje metodę całkowania obrazu dwuwymiarowego po azymucie (Hammersley A. P. 1996, 1998) uzyskano jednowymiarowy obraz intensywności rozpraszania w funkcji wektora rozpraszania. Następnie dla każdego związku uśredniono wyniki pomiarów dla krótkiej i długiej odległości próbka – detektor (Rys. 44). Od obu „odległości” odjęto intensywności zmierzone dla pustej kapilary, po czym połączono otrzymane funkcje natężenia.

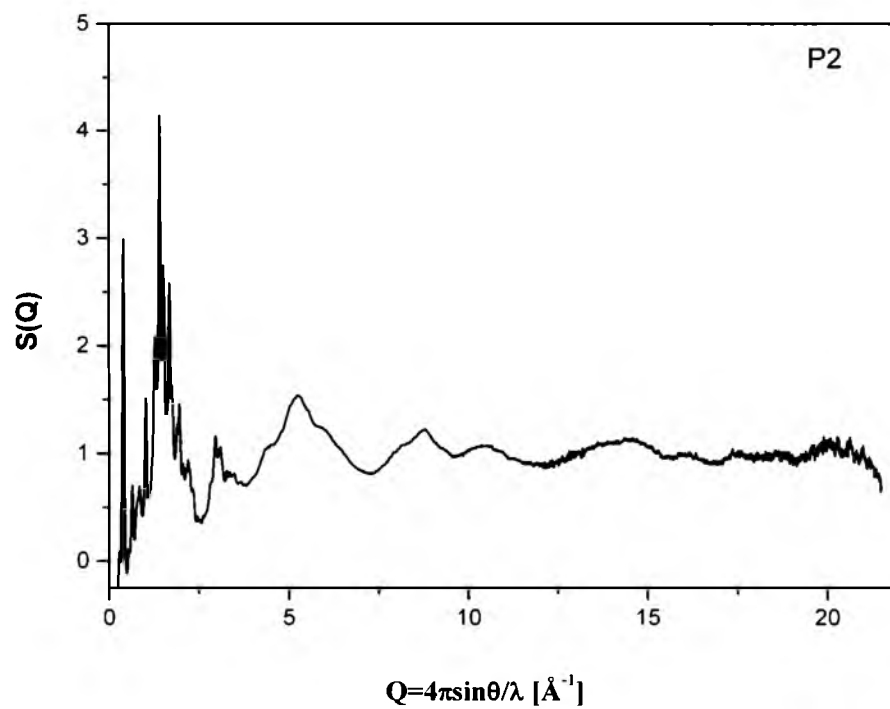


Rys. 44. Zależność intensywności w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P2, przy dwóch odległościach próbka - detektor

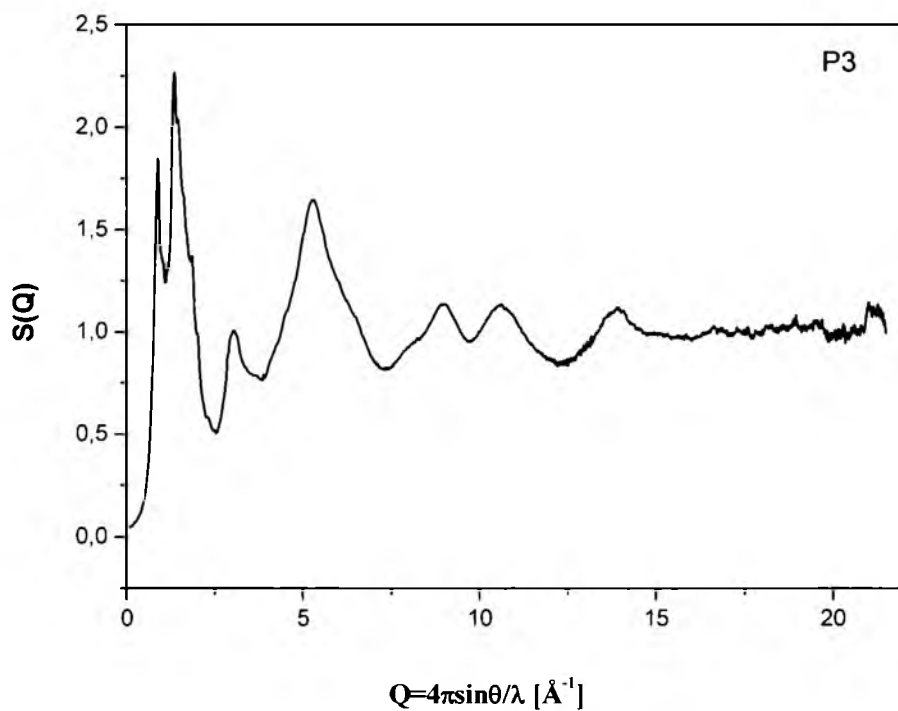
W kolejnym etapie obliczeń uwzględniono poprawkę na polaryzację i rozpraszanie Comptona (Waasmaier D. and Kirfel A. 1995; Balyuzi H.H.M.1975). Wprowadzenie poprawek na absorpcję i wielokrotne rozpraszanie nie nastręczało problemów, ponieważ przy zastosowanej geometrii pomiarów i krótkiej długości fali, nie zależą one od kąta (Poulsen H.F. i inni 1995). Uzyskaną intensywność znormalizowano do jednostek elektronowych, a następnie wykorzystano do wyznaczenia zależności czynnika struktury od wektora rozpraszania. Wyniki otrzymano z wartością maksymalną wektora rozpraszania równą 21.5 Å. Graficznie czynnik struktury w funkcji wektora rozpraszania przedstawiono na wykresach Rys.45 – Rys. 51. W większości przedstawionych zależności $S(Q)$, obok szerokich maksimów charakterystycznych dla materiałów amorficznych, obserwujemy także występowanie ostrych pików braggowskich, typowych dla kryształów. Udział rozpraszania typu Bragga w całkowitym obrazie dyfrakcyjnym jest bardzo mały.



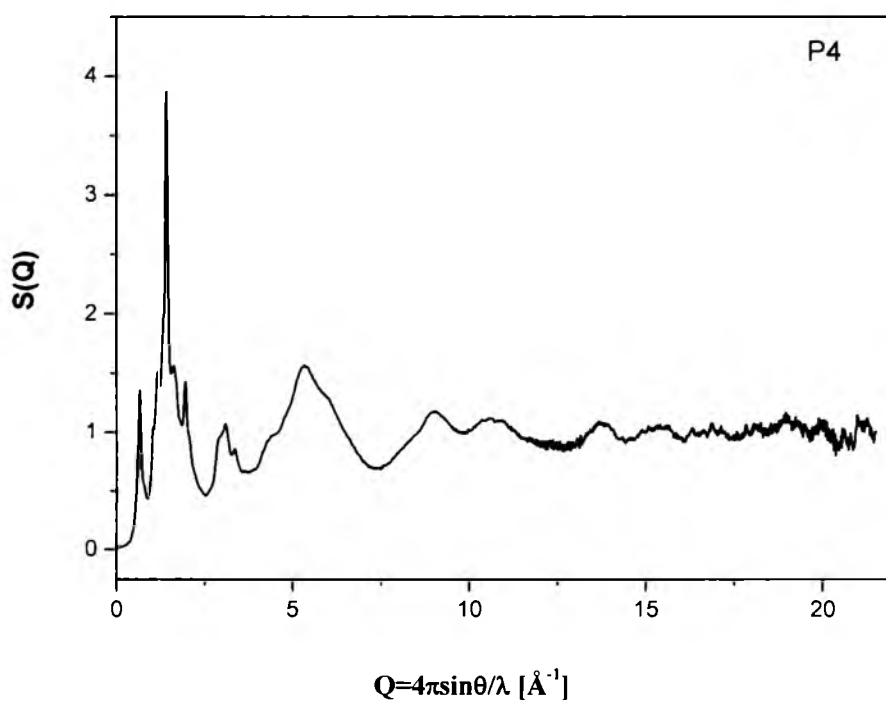
Rys. 45. Czynn timer struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P1



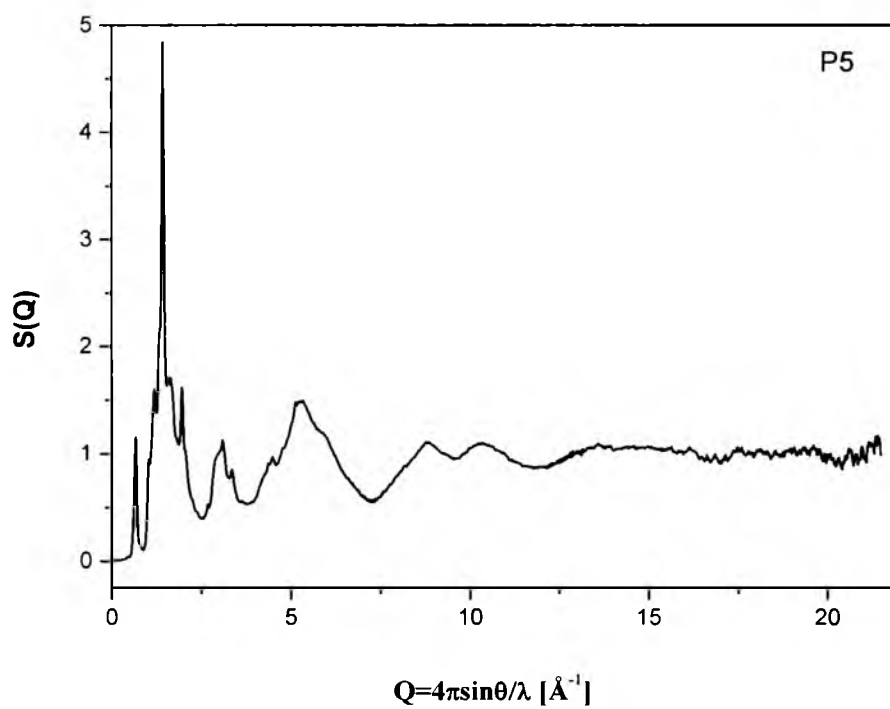
Rys. 46. Czynn timer struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P2



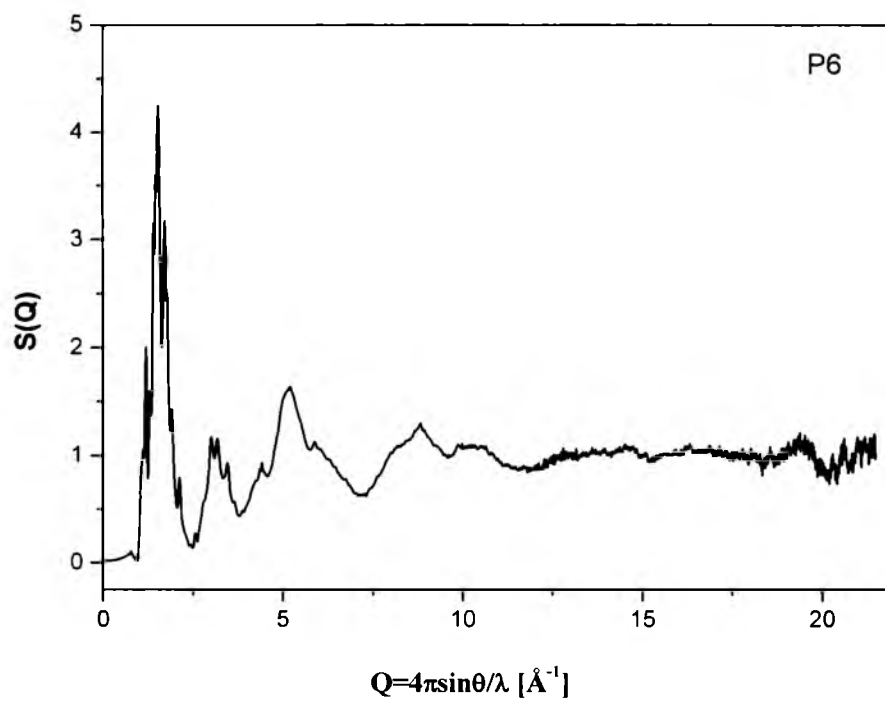
Rys. 47. Czynniki struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P3



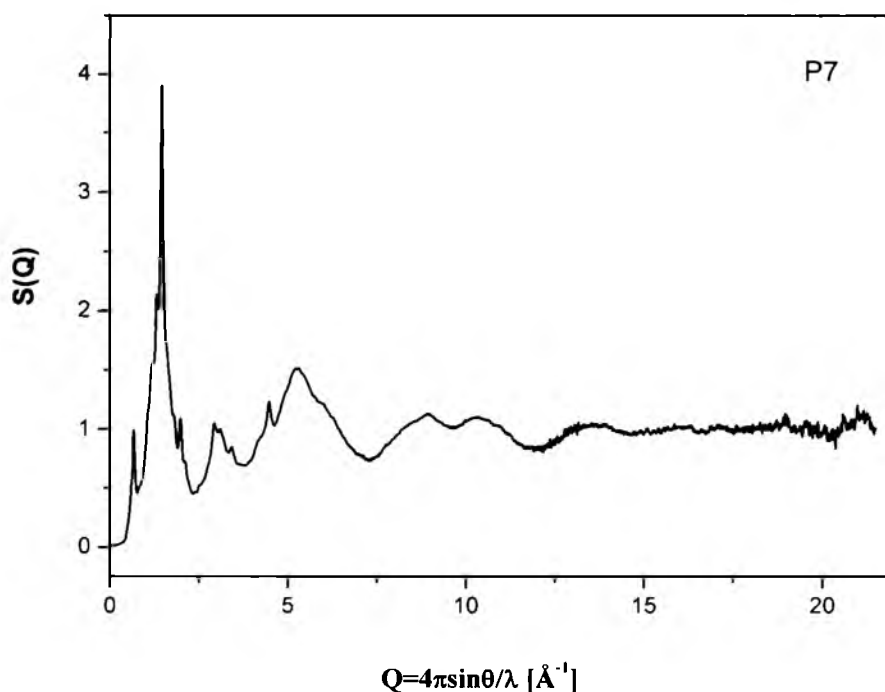
Rys. 48. Czynniki struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P4



Rys. 49. Czynn timer struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P5



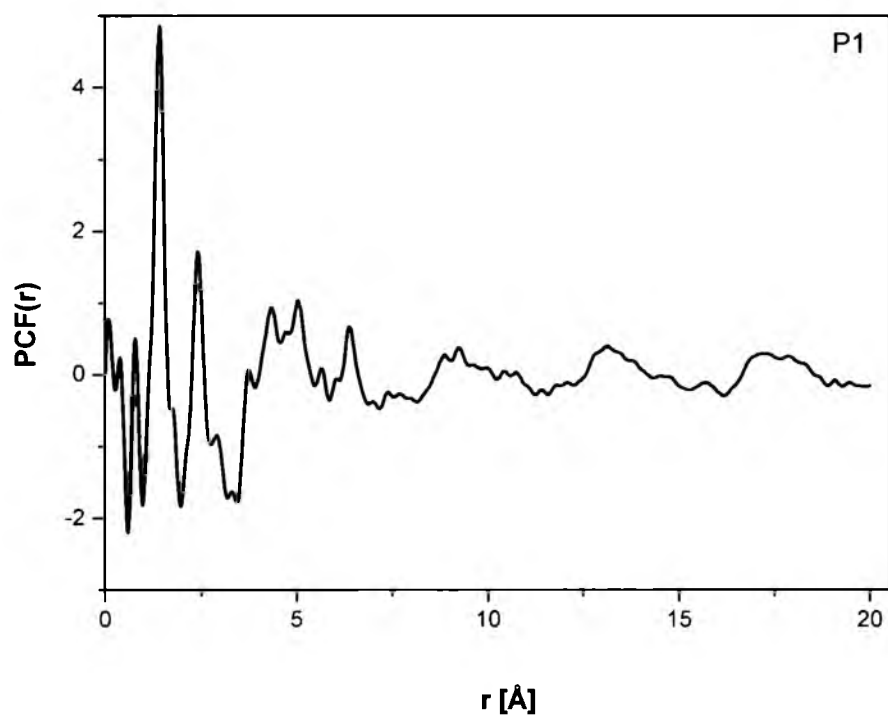
Rys. 50. Czynn timer struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P6



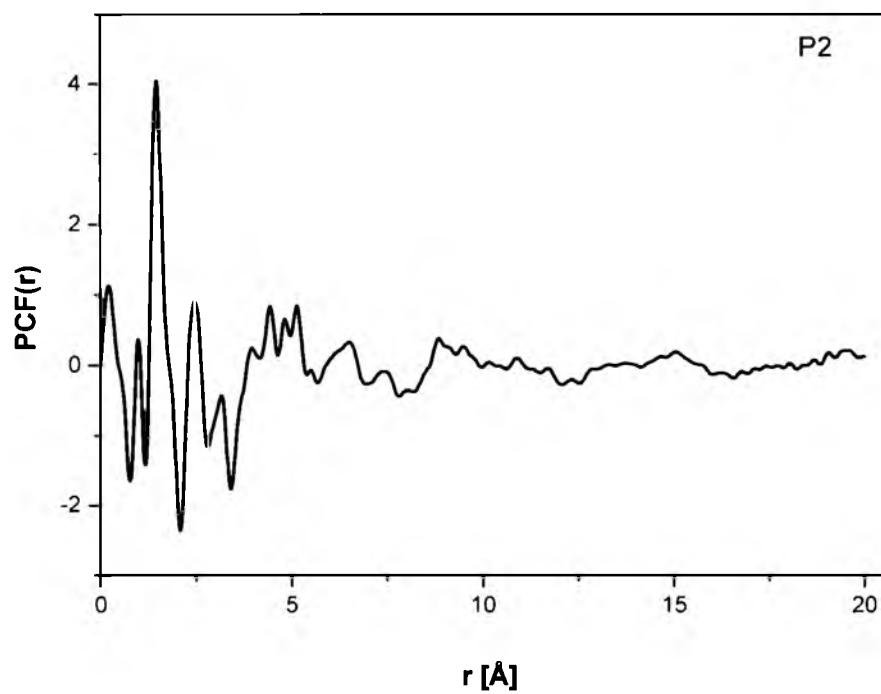
Rys. 51. Czynniki struktury w funkcji wektora rozpraszania dla próbki P7

Analizę danych otrzymanych z pomiarów dyfrakcyjnych, dla próbek nie wykazujących periodyczności struktury można przeprowadzić z wykorzystaniem funkcji korelacji par atomów. Funkcja korelacji par atomów (PCF – Pair Correlation Function) z definicji określa prawdopodobieństwo znalezienia atomu w danej odległości od innego atomu. Uzyskujemy informację w zależności od odległości i możemy rozumieć PCF jako funkcję odległości międzyatomowych.

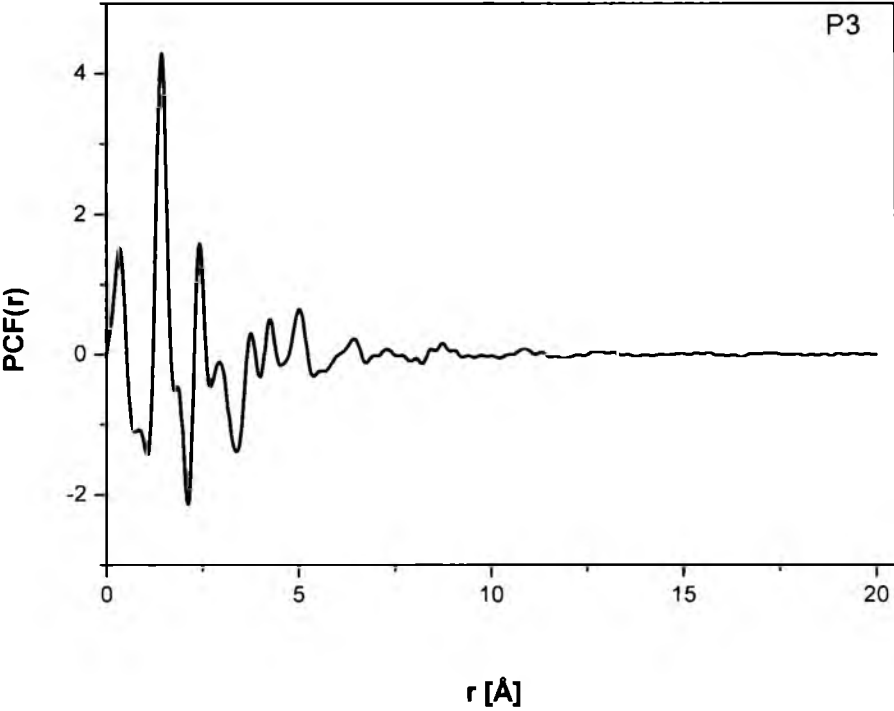
Poprzez Transformatę Fouriera znormalizowanej intensywności rozpraszania wyznaczono funkcję korelacji par atomów. Wysoka wartość Q_{max} umożliwiła otrzymanie w przestrzeni rzeczywistej funkcji korelacji par atomów o dobrej rozdzielczości (Pasewicz i inni 2008; Idziak, Pasewicz i inni 2008).



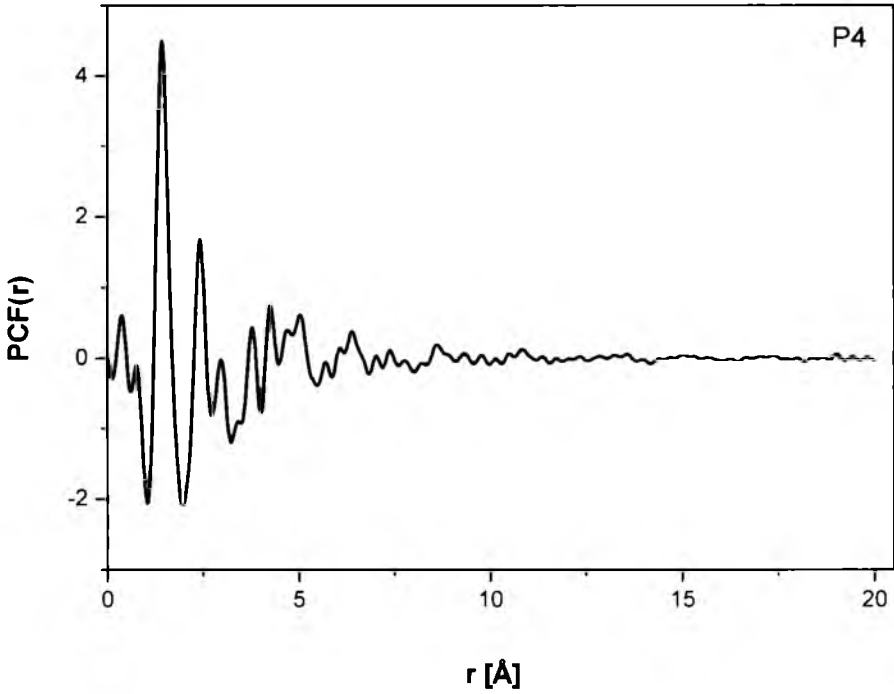
Rys. 52. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P1



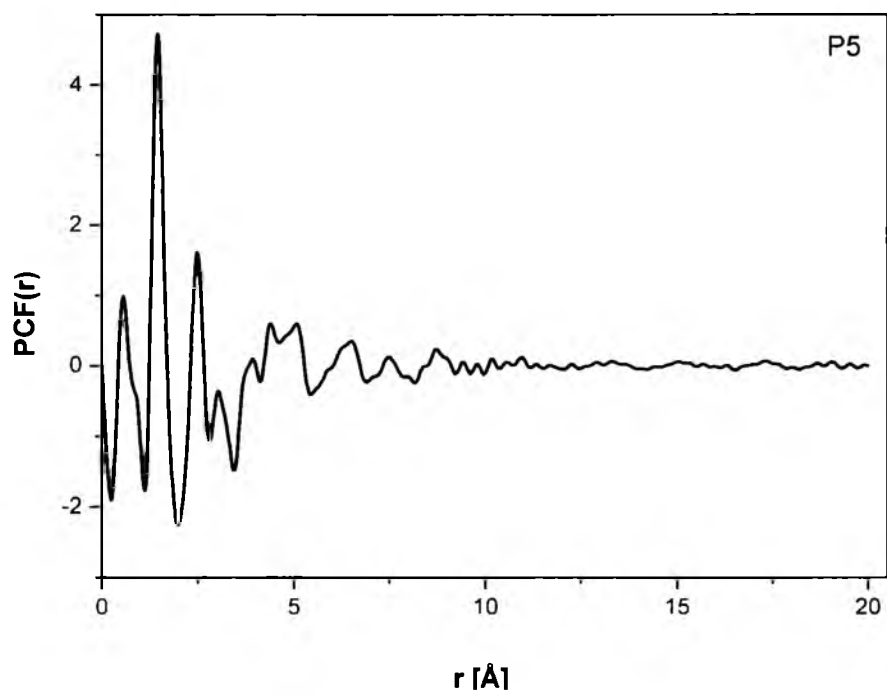
Rys. 53. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P2



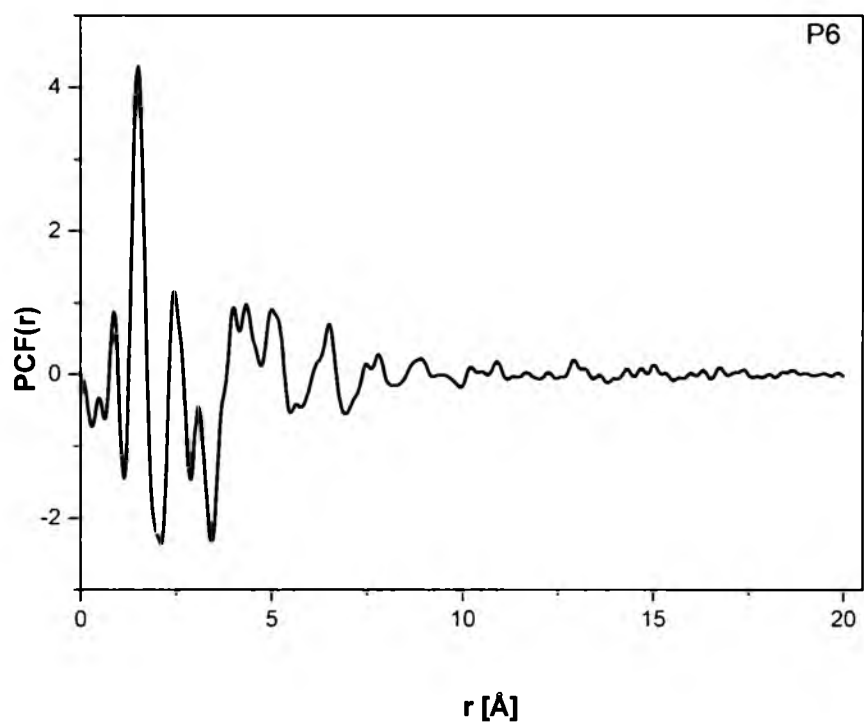
Rys. 54. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P3



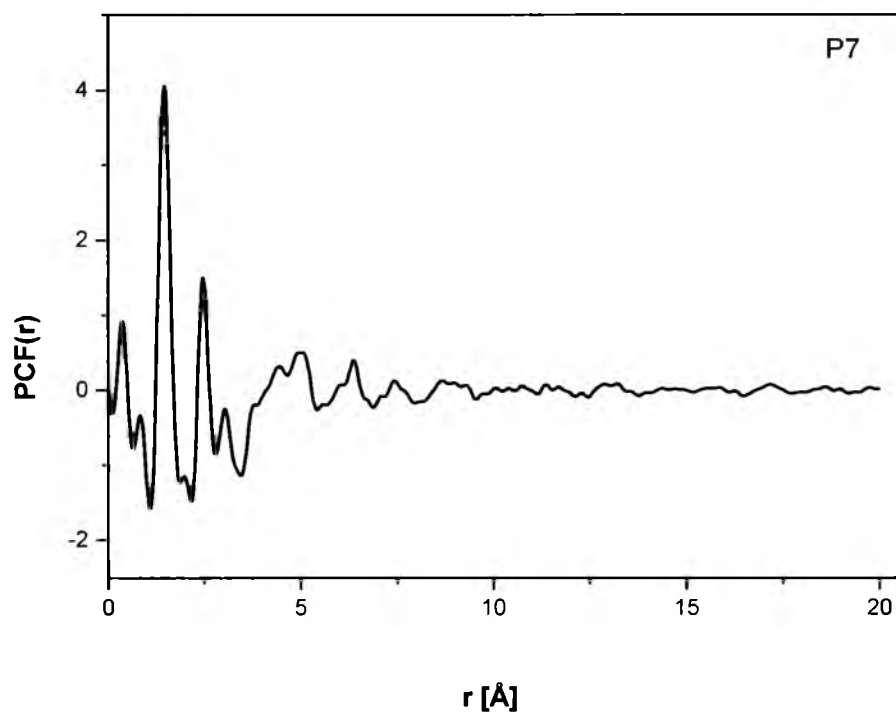
Rys. 55. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P4



Rys. 56. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P5



Rys. 57. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P6

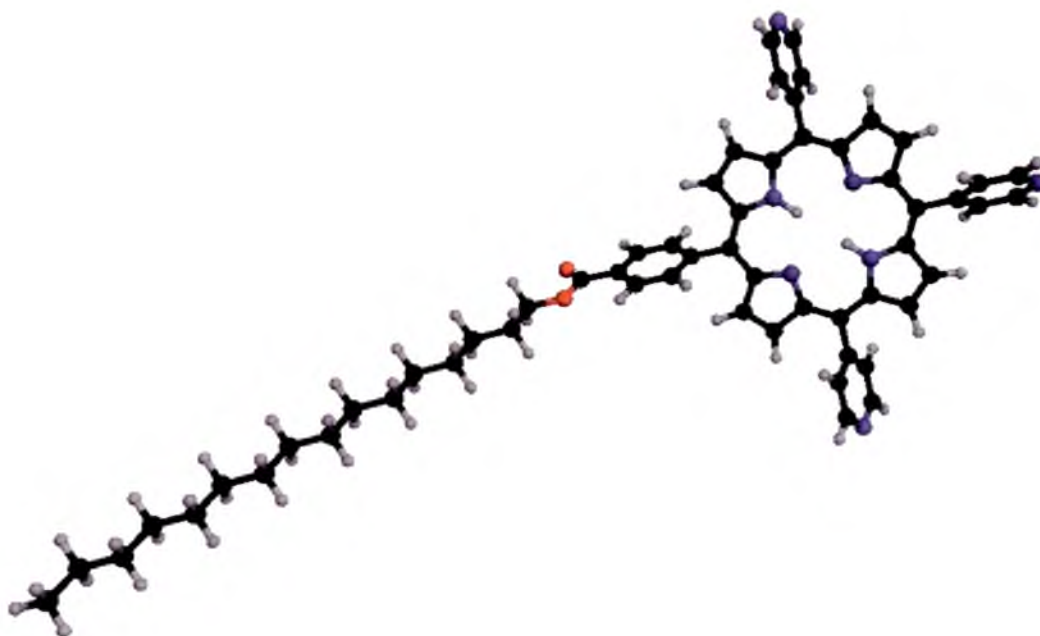


Rys. 58. Funkcja korelacji par atomów dla próbki P7

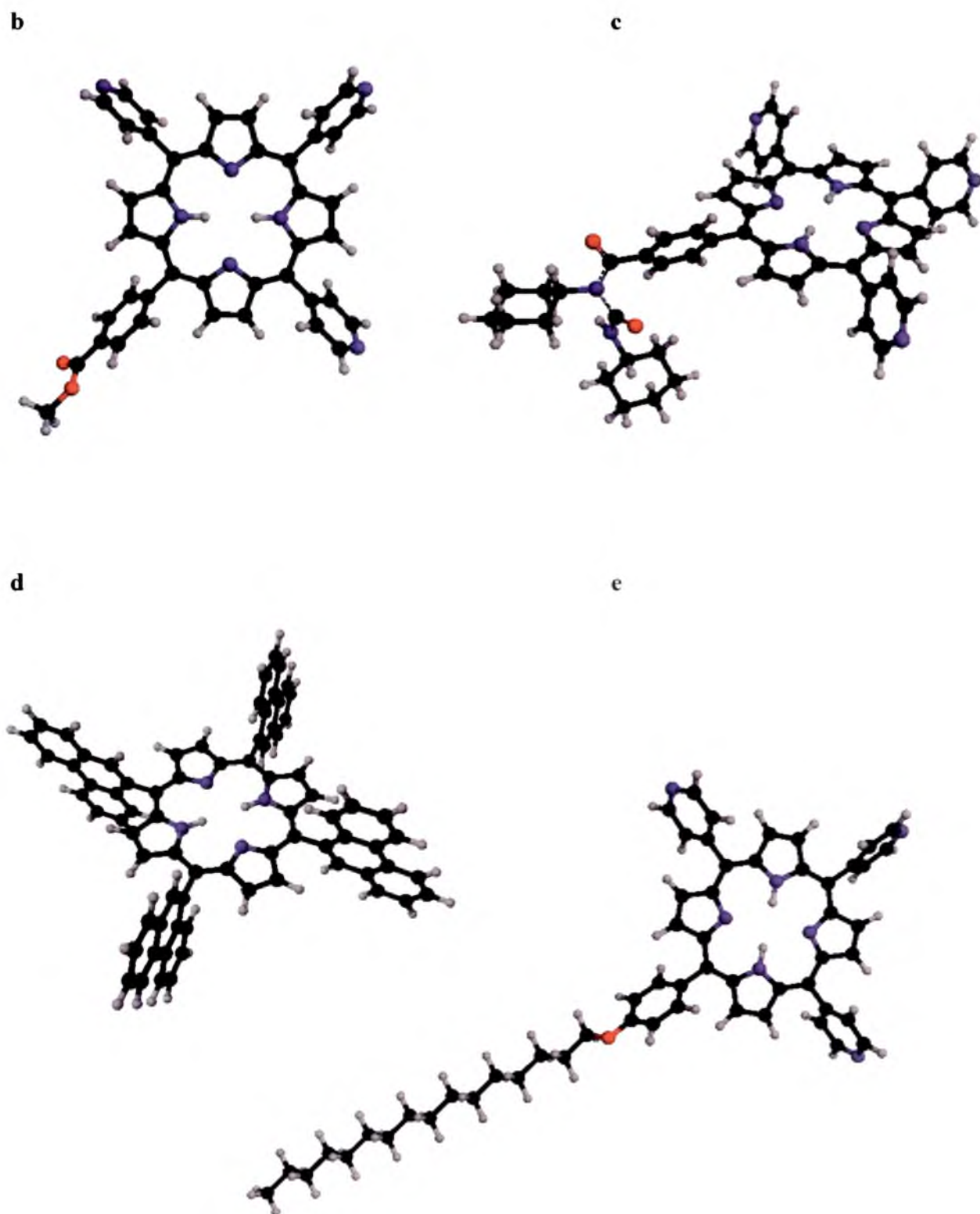
15.3. MODELOWANIE FUNKCJI KORELACJI PAR ATOMÓW Z WYKORZYSTANIEM TEORII FUNKCJONAŁÓW GĘSTOŚCI

Modelowanie pojedynczych cząsteczek porfiryn przeprowadzono metodą teorii funkcyjnałów gęstości (DFT) (Hohenberg P., Kohn W. 1964; Kohn W., Sham L.J. 1965) wykorzystując do tego celu program Parallel Quantum Solution (PQS v. 3.1; <http://www.pqs-chem.com>; Baker J., Woliński K. i inni 2009). Obliczenia prowadzono przy zastosowaniu modelu funkcyjnału B3LYP (Bake A.D. 1988, 1993; Lee C., Yang W., Parr R.G. 1998) oraz różnych baz: 6-31G, 6-31G*, 6-31G**, cc-pvdz. Proces optymalizacji geometrii molekuł umożliwił wyznaczenie szczegółowych konformacji porfiryn (współrzędne kartezjańskie atomów). Wizualizację poszczególnych molekuł, przedstawiono na poniższych rysunkach.

A

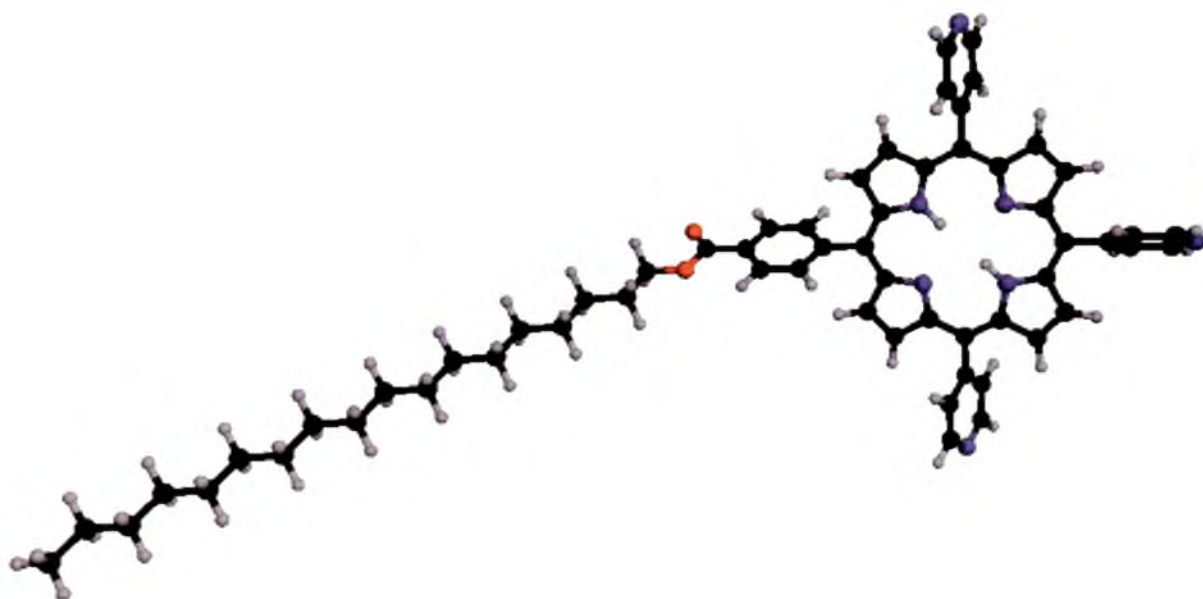


Rys. 59. Geometria porfiryn uzyskana w wyniku symulacji DFT: a) P4; b) P2; c) P6; d) P3; e) P1; f) P5; g) P7; atomy poszczególnych pierwiastków oznaczono kolorami: C, O, N,

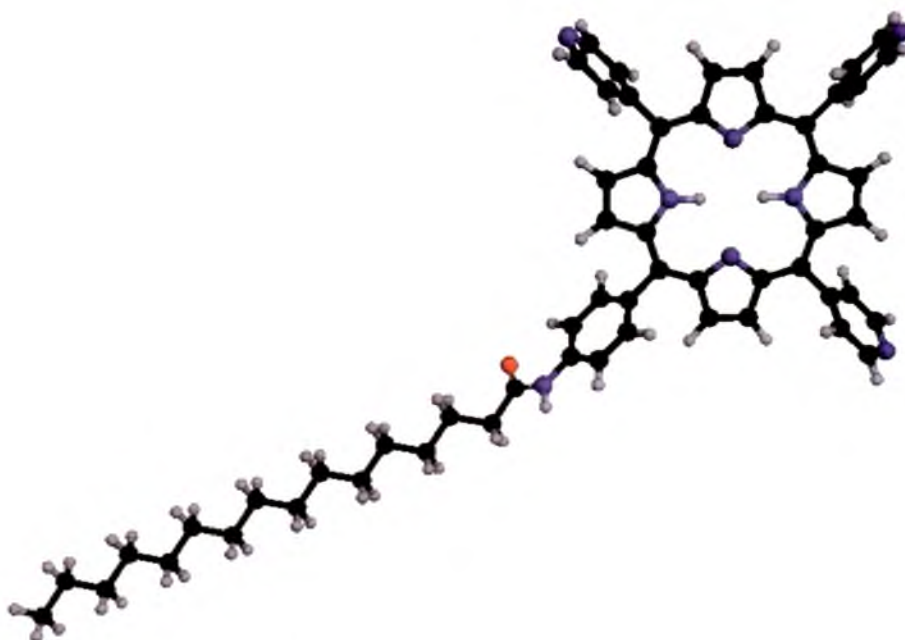


Rys. 59. Geometria porfiryn uzyskana w wyniku symulacji DFT: a) P4; b) P2; c) P6; d) P3; e) P1; f) P5; g) P7; atomy poszczególnych pierwiastków oznaczono kolorami: C, (), \,

f



g



Rys. 59. Geometria porfiryn uzyskana w wyniku symulacji DFT: a) P4; b) P2; c) P6; d) P3; e) P1; f) P5; g) P7; atomy poszczególnych pierwiastków oznaczono kolorami: C, O, N, H

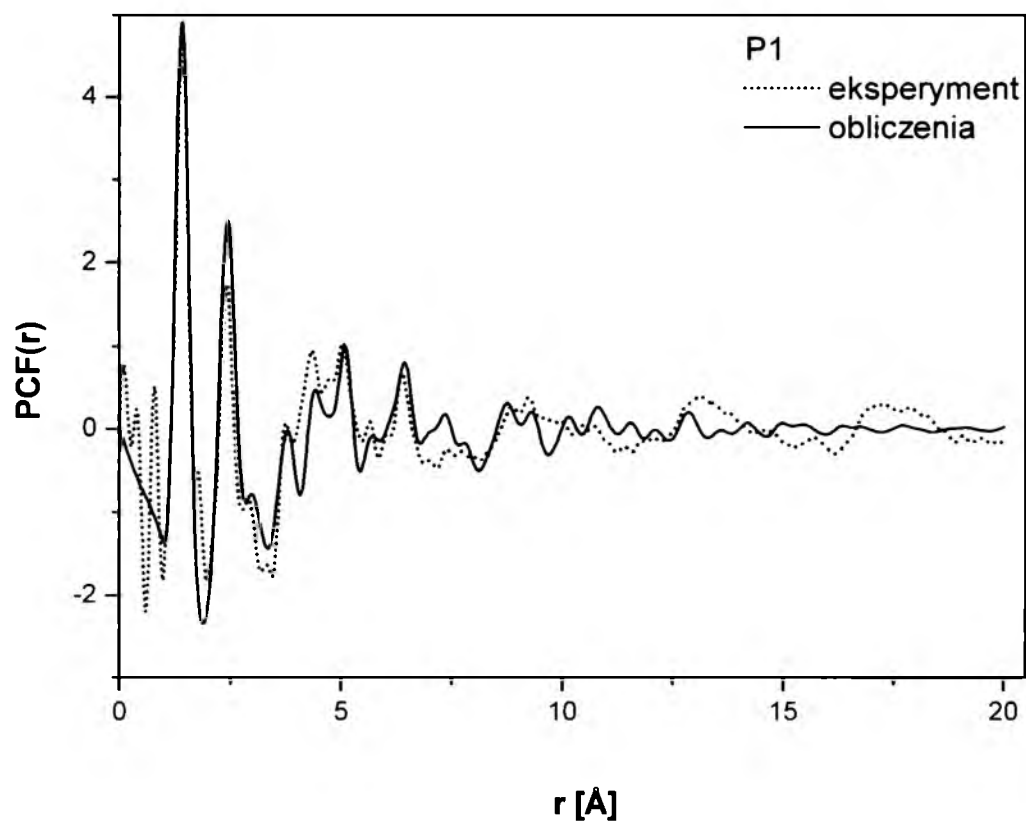
Uzyskane w wyniku symulacji informacje wykorzystano do wyznaczenia teoretycznej postaci czynnika struktury dla danej molekuly. Znajomość czynnika struktury pozwoliła na wygenerowanie teoretycznej funkcji korelacji par atomów. Porównując wyniki obliczeń dla modelowej cząsteczki stwierdzono, iż zróżnicowane konformacje molekuly jak i symulacje z wykorzystaniem różnych baz nie prowadzą do istotnych rozbieżności w funkcji korelacji par atomów. W związku, z czym ograniczono się do wyboru jednej bazy 6-31G* i jednej konformacji, dla których czas obliczeń uznany został za optymalny. W trakcie obliczeń wygenerowano funkcję korelacji par atomów w zakresie 0 – 20 Å (Pasewicz i inni 2008; Idziak, Pasewicz i inni 2008).

Metoda DFT nie zakłada termicznych drgań atomów, dlatego w toku rachunków uwzględniono także czynniki temperaturowe dla każdego rodzaju atomu cząsteczki. Ich wartości zostały przedstawione w *Tabeli 21*. Wartości temperaturowych czynników Debay'a – Wallera są izotropowe.

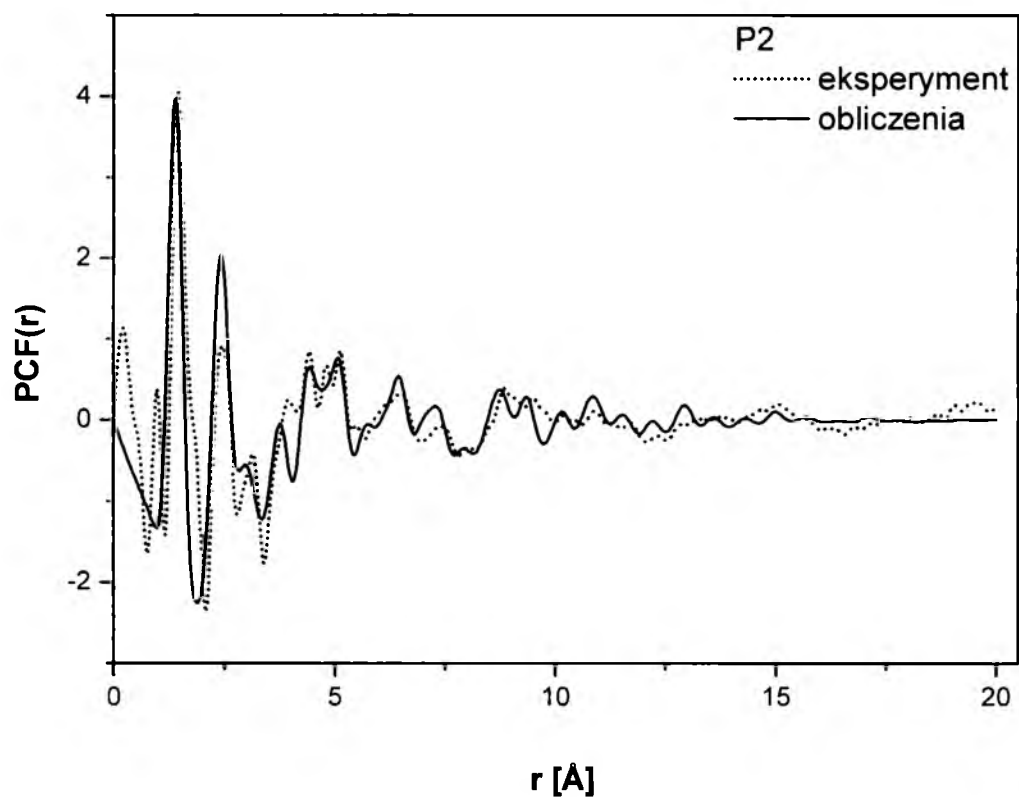
Związek	C	N	O	H
P1	0.08	0.06	0.05	0.25
P2	0.09	0.07	0.06	0.25
P3	0.09	0.06	-	0.25
P4	0.08	0.06	0.05	0.25
P5	0.08	0.06	0.05	0.25
P6	0.08	0.06	0.05	0.25
P7	0.13	0.06	0.05	0.25

Tab. 16. Zestawienie temperaturowych czynników Debay'a – Wallera dla badanych związków.

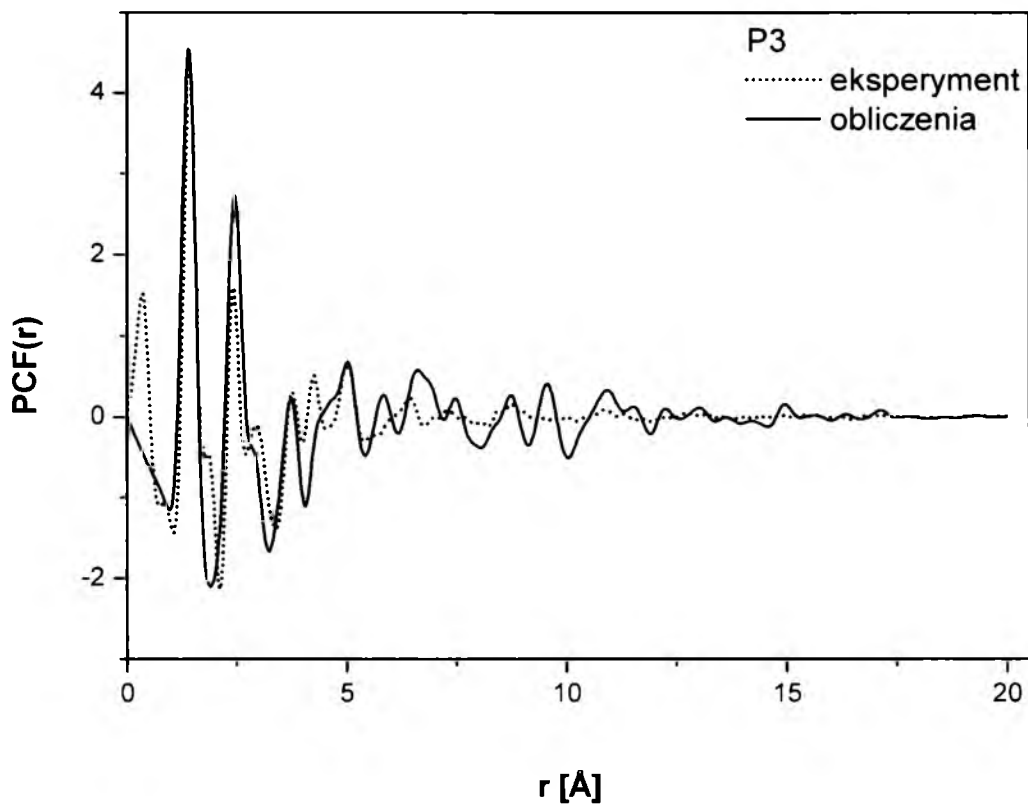
Zastosowanie analogicznych obliczeń jak dla danych eksperymentalnych umożliwiło zestawienie teoretycznej funkcji korelacji par atomów z funkcją otrzymaną na drodze pomiarów synchrotronowych. Graficzne zestawienia obu funkcji korelacji par atomów przedstawiono na kolejnych wykresach



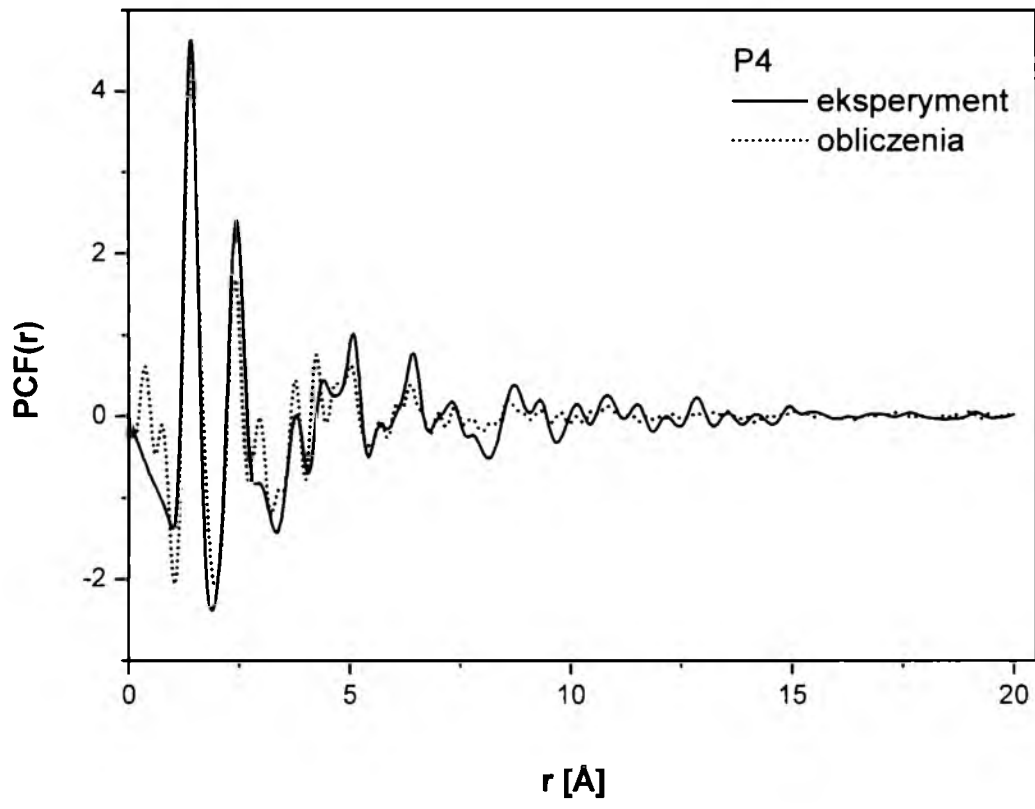
Rys. 60. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P1



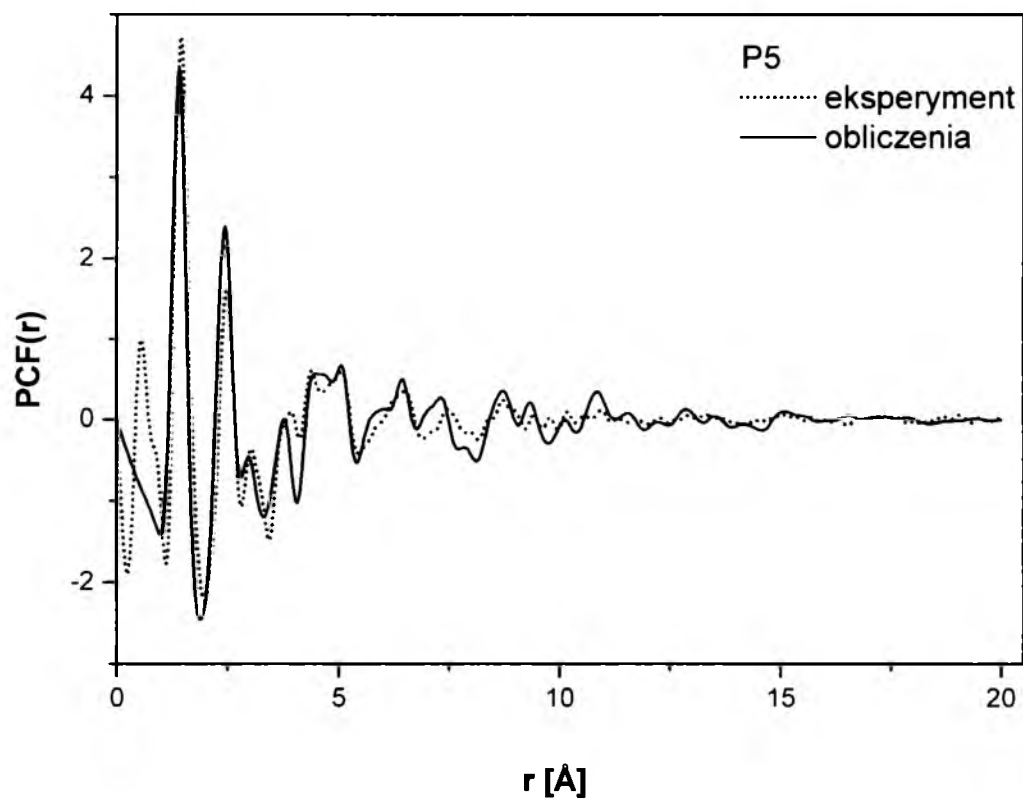
Rys. 61. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P2



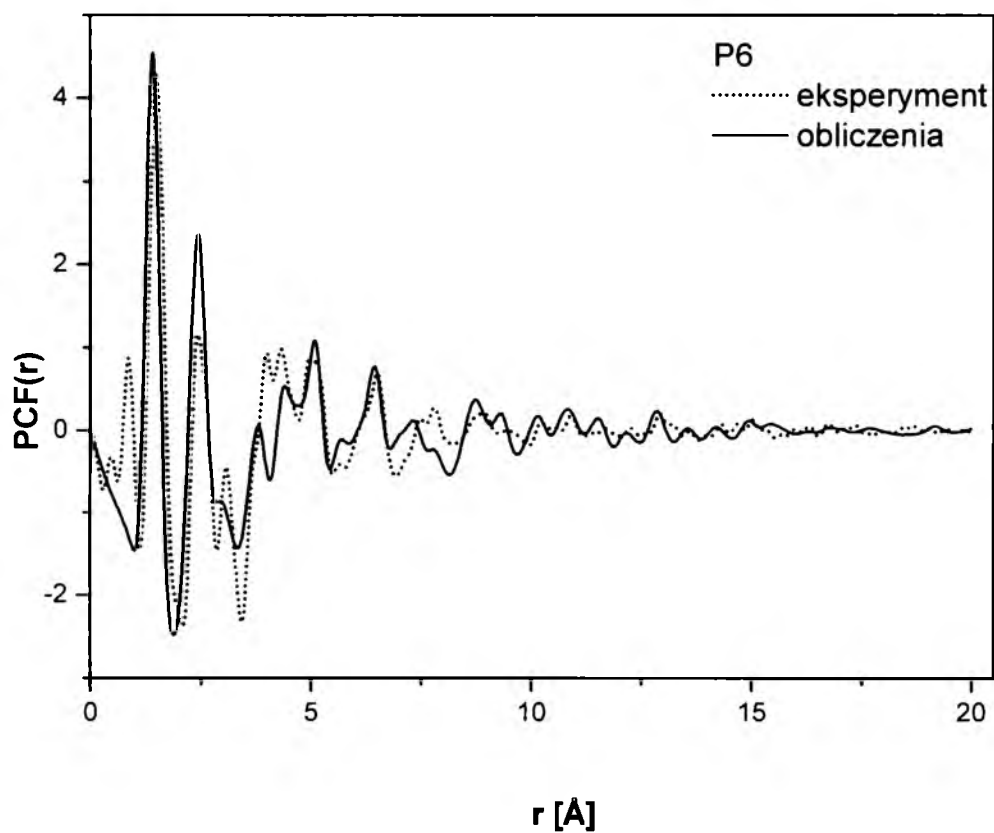
Rys. 62. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P3



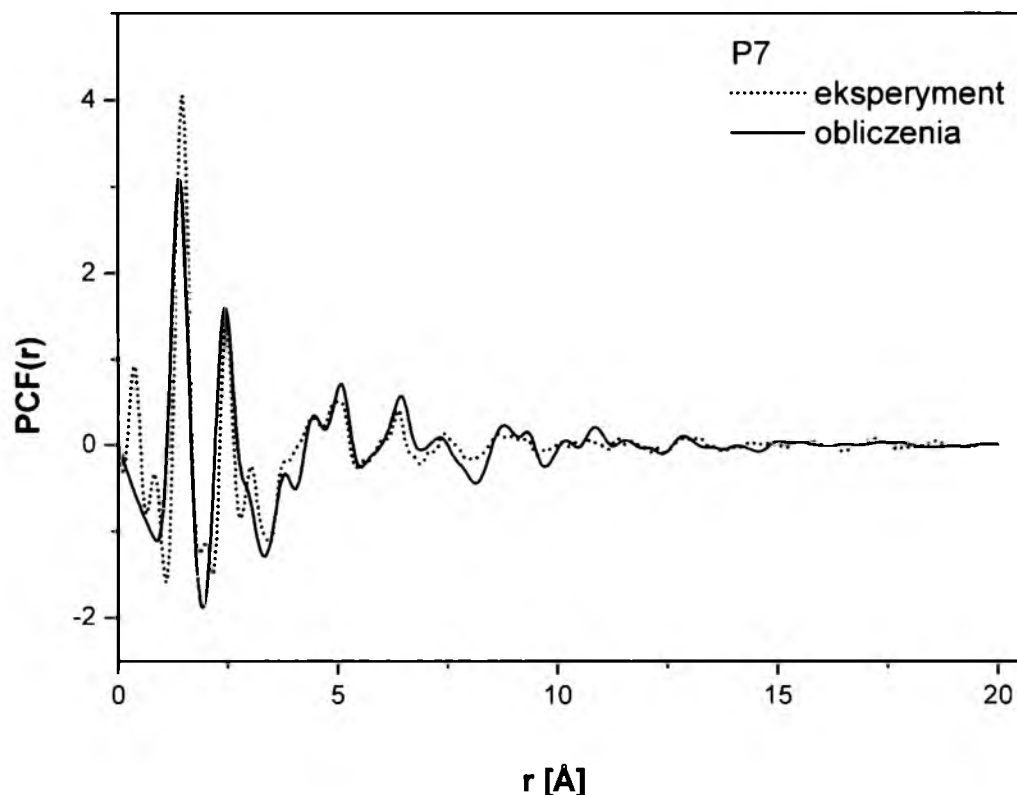
Rys. 63. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P4



Rys. 64. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P5



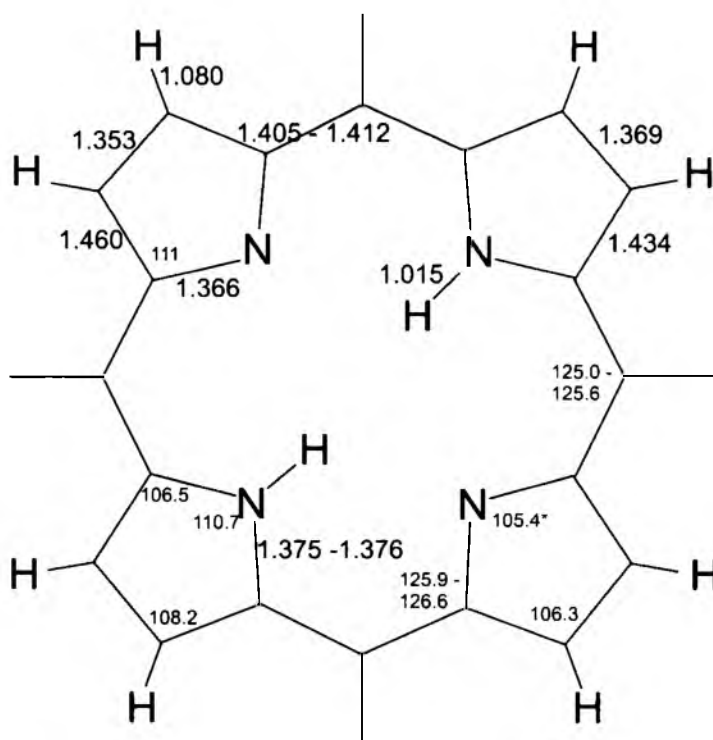
Rys. 65. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P6



Rys. 66. Porównanie eksperymentalnej i teoretycznej PCF dla próbki P7

Przedstawione na wykresach funkcje korelacji par atomów uzyskane w wyniku eksperymentu jak i symulacji z wykorzystaniem metod DFT, charakteryzują się obecnością intensywnych maksimów w zakresie 1 – 5 Å. Wraz ze wzrostem odległości natężnie kolejnych intensywności ulega zmniejszeniu. Najbardziej intensywne maksimum funkcji korelacji par atomów pojawia się w zakresie 1.16 – 1.7 Å i obejmuje odległości atomów bezpośrednio połączonych ze sobą za pomocą wiązań chemicznych. Reprezentuje ono odległości takie jak: węgiel – węgiel w pierścieniach pirydylowych, pirolowych, czy łańcuchach alkilowych. Kolejne maksima odpowiadają większym odległościom związanym między innymi z przekątnymi pierścieni pirydylowych, fenyłowych, odległości pomiędzy wodorami w makrocyklu, jak i łańcuchach alkilowych. Zakres do 12 Å odzwierciedla przede wszystkim zależności wewnątrzcząsteczkowe. Charakterystykę wybranych wiązań pierścienia porfirynowego przedstawiono na *Rysunku 67*. Przykładowe odległości zestawiono w *Tabeli 17*, wraz z wartościami eksperymentalnymi dla pochodnych porfirynowych. Analiza wyników przedstawionych w tabeli wskazuje na dobrą zgodność wyników symulacji

przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy z wynikami prezentowanymi w literaturze (Chen., Tulinsky 1972; George 2005; Lin 2003; Navaza1983; Walawalkar 1993; Desiraju1993; Gowda 2009; Kozłowski i inni 1995, Li., Zgierski 1995).



Rys. 67. Wybrane długości wiązań i kąty dla pierścienia porfiryнового badanych związków.

*- dla tetrafenatrenoporfiryny kąt $C_{\alpha}-N-C_{\alpha} = 105.3^{\circ}$

TYP WIĄZANIA	ODLEGŁOŚĆ OTRZYMANA W WYNIKU OBLICZEŃ ^a [Å]	ODLEGŁOŚĆ LITERATUROWA - EKSPERYMENTALNA ^b [Å]	ODLEGŁOŚĆ LITERATUROWA- TEORETYCZNA ^c [Å]
N-H	1.015	0.86; 0.93	1.015
C _α -N	1.375 - 1.376; 1.366	1.371 - 1.383; 1.363	1.373
C _α -C _β pierścień porfirynowy (pirol protonowany)	1.434; 1.469	1.425 – 1.437	1.435
C _α -C _β pierścień porfirynowy (pirol)	1.369; 1.353	1.439 – 1.456	1.460
C _β -C _β pierścień porfirynowy (mostki metinowe)	1.405 – 1.412	1.373 – 1.398	1.394 – 1.400
C _β -H pierścień porfirynowy	1.080	0.920 – 1.140	1.082 – 1.086
C-H podstawnik pirydylowy, podstawnik fenatrenowy, podstawnik fenyłowy	1.084 – 1.088	0.950	
C-C fenantren	1.383	1.320 – 1.383	
	1.414 - 1.450	1.402 – 1.470	
C-C podstawnik fenyłowy, podstawnik pirydylowy	1.390 - 1.405	1.387 - 1.40	
C-N podstawnik pirydylowy	1.339	1.340; 1.341	
C=O grupa karbonylowa	1.216	1.208; 1.209	
C-O wiązanie estrowe	1.351; 1.445	1.329; 1.343; 1.448	
C-O wiązanie eterowe	1.361; 1.428	1.30 - 1.39; 1.47 – 1.54	
C=O grupa amidowa	1.223	1.223	
C-N grupa amidowa	1.409; 1.380	1.362; 1.413	
C-C łańcuch alikilowy	1.528 - 1.534	1.476 - 1.55	
C-H łańcuch alikilowy	1.097; 1.100	0.960; 0.970	
C-C cykloheksan	1.536-1.540	1.491 – 1.530	
C-H cykloheksan	1.095 – 1.097		
C-N podstawnik mocznikowy	1.364 - 1.493		
C-C pierścień pirolowy - przekątne	2.253-2.271		
C-C podstawnik fenyłowy – przekątne	2.411-2.822		
C-C podstawnik pirydylowy – przekątne	2.390-2.720		
C-C fenantren – przekątne	2.442 - 2.872		
C-C cykloheksan – przekątne	2.539-2.969		

Tab. 17. Zestawienie wybranych odległości międzyatomowych dla badanych pochodnych porfiryn; a–wartości uzyskane w wyniku symulacji DFT; b–Chen., Tulinsky 1972; George 2005; Lin 2003; Navaza 1983; Walawalkar 1993; Desiraju 1993; Gowda 2009; c– Kozłowski i inni 1995, Li., Zgierski 1995 (symulacje DFT)

Analizując strukturę pierścienia porfirynowego można zauważyć, iż dla wszystkich badanych związków za wyjątkiem porfiryny P3, występują odchylenia poszczególnych elementów pierścienia od płaszczyzny, które zawierają się w zakresie do 5.5° . Brak planarności makrocyklu porfirynowego został odnotowany w literaturze (Silvers S.J. i Tulinsky A. 1972). Podobnie podstawniki nie znajdują się w płaszczyźnie pierścienia lecz nachylone są w stosunku do pierścienia pod pewnymi kątami, których wartości zamieszczono w Tabeli 18.

TYP KĄTA	WARTOŚĆ KĄTA [$^\circ$]
Pierścień porfirynowy – podstawnik fenantrenowy	93.2-90.3
Pierścień porfirynowy – podstawnik pirydylowy	104.4-107.6
Pierścień porfirynowy – podstawnik fenylowy	105.5-106.2
C-C-C w łańcuchu alkilowym	112.5-113
C-N-C grupa amidowa	129.1
C-O-C grupa estrowa	115.9
C-O-C grupa eterowa	118.9

Tab. 18. Zestawienie wybranych wartości kątów dla badanych pochodnych porfiryn, uzyskanych w wyniku symulacji DFT.

Eksperymentalna wartość rozdzielczości w przestrzeni rzeczywistej równa $2\pi/Q_{max}$ nie jest wystarczająca do wyodrębnienia maksimów funkcji korelacji par dla każdej pary atomów z osobna. Porównując funkcje korelacji par atomów uzyskane na drodze symulacji DFT z funkcjami eksperymentalnymi można stwierdzić obecność wyraźnych rozbieżności w zakresie 0 - 0.5 Å. We wszystkich eksperymentalnie wyznaczonych funkcjach korelacji par atomów obserwuje się maksima występujące poniżej 0.5 Å, które nie mają natury strukturalnej i wynikają z trudności zaistniałych na etapie normalizacji funkcji. Również dla doświadczalnej funkcji PCF widoczne są maksima o stosunkowo niskiej intensywności występujące w przedziale 0.7 - 1 Å. Reprezentują one długości wiązań pomiędzy azotem, a iminowym wodorem w makrocyklu porfirynowym. Dla porfiny (0.86 Å) i tetrafenylporfiryny (0.93 Å) wartości odległości N-H zostały określone z wykorzystaniem klasycznych metod rentgenostrukturalnych przez Chen i Tulinsky (Chen B.M.L. i Tulinsky A. 1972). Z obliczeń DFT wynika, iż odległości N-H występujące w centrum pierścienia porfirynowego wynoszą 1.015 Å. Metoda DFT z potencjałem hybrydowym i zastosowaniem bazy 6-31G* ma tendencje do zawyżania długości wiązań, nawet do 0.036 Å w stosunku do

danych eksperymentalnych (Johnson B.G. i inni 1993).

Dla większości próbek wyraźne rozbieżności w zestawieniu eksperymentalnej i symulacyjnej funkcji korelacji par uwidaczniają się w zakresie 12 - 20 Å. Sytuacja ma związek z brakiem uwzględnienia w toku obliczeń zależności międzycząsteczkowych. Zakres 12 - 20 Å obejmuje korelacje międzycząsteczkowe. W trakcie obliczeń podjęto próby wygenerowania funkcji korelacji par atomów dla większej liczby cząsteczek w układzie. Jednakże ze względu na duży czas obliczeń i możliwości dostępnych komputerów nie udało się uzyskać zadowalających wyników optymalizacji geometrii układu więcej niż jednej molekuly.

Dla związków o charakterze mieszanym (amorficzno - krystalicznym), w eksperymentalnej funkcji PCF obserwujemy także oscylacje o okresie około 4-5 Å, które wynikają z obecności w początkowej części widma dyfrakcyjnego ostrych pików natury krystalicznej nakładających się na szerokie amorficzne maksima eksperymentalnego czynnika struktury.

Porównując eksperymentalne funkcje korelacji par atomów z funkcjami uzyskanymi na drodze symulacji DFT należy pamiętać, iż obliczenia prowadzone były dla pojedynczej molekuly. Nie uwzględniono tutaj korelacji międzycząsteczkowych, podczas gdy eksperyment dyfrakcyjny przeprowadzony został na próbce makroskopowej. Niemniej jednak dzięki zastosowanej metodologii udało się uzyskać dane o strukturze wewnątrzcząsteczkowej, a zastosowanie krótkotrwałej ekspozycji na promieniowanie rentgenowskie zminimalizowało prawdopodobieństwo rozkładu materiału organicznego.

16. PODSUMOWANIE I DYSKUSJA UZYSKANYCH WYNIKÓW

W wyniku przeprowadzonych syntez uzyskano siedem mezo – podstawionych pochodnych tetra - aryloporfiryń. Zsyntezowane materiały można podzielić na dwie grupy: związki uzyskane w trakcie syntez jednoetapowych, gdzie po przeprowadzeniu procesu oczyszczania i rozdziału otrzymywana jest założona porfiryńna oraz materiały uzyskane w wyniku wieloetapowych reakcji syntezy i modyfikacji podstawników. Proces pozyskiwania drugiej grupy związków wiązał się z uzyskaniem pochodnych wyjściowych zaopatrzonych w odpowiednie grupy funkcyjne: metoksykarbonylofenylową i acetamidofenylową. Związki te w wyniku przeprowadzonych reakcji hydrolizy lub deacylowania dawały pochodne podstawione aktywnymi grupami: karboksylową lub aminową. Użytkane pochodne karboksyfenylowe i aminofenylowe sprzęgano z długimi łańcuchami węglowymi (15 do 18 atomów węgla). Ostatecznie w wyniku wyżej przedstawionych procedur otrzymano pochodne zawierające długie łańcuchy alkilowe połączone z porfiryńną za pomocą grupy estrowej lub amidowej. Obecność długiego łańcucha alkilowego powinna sprzyjać transportowi potencjalnego fotouczulacza do wnętrza komórki za pomocą nośników liposomowych. Z kolei występowanie wiązania estrowego czy amidowego ma ułatwiać rozpad metaboliczny porfiryńny po uprzednim jej wykorzystaniu w efekcie fotodynamicznym.

Podczas przeprowadzania kolejnych etapów syntezy systematycznie kontrolowano ich poprawność wykorzystując do tego celu zarówno metodę chromatografii cienkowarstwowej jak i spektrometrii masowej. Ostatecznie czystość i budowa cząsteczkowa otrzymanych materiałów zostały zweryfikowane za pomocą spektrometrii masowej (ESI MS) i spektroskopii magnetycznego rezonansu magnetycznego (^1H NMR). Możliwość szybkiego przeprowadzenia eksperymentu oraz nie narażająca zbyt wiele problemów interpretacja wyników stanowiły o wyborze metod analizy instrumentalnej.

Metodę spektroskopii w podczerwieni wykorzystano do charakterystyki spektralnej uzyskanych materiałów. Zastosowana technika pomiarowa ATR umożliwiła pomiar związków porfiryńowych wykazujących silną absorpcję w zakresie IR oraz uzyskanie dobrej jakości widm dla tego rodzaju związków. Wstępna analiza widm podczerwonych wykazała obecność charakterystycznych dla porfiryń pasm absorpcji. Jednakże dopiero zestawienie uzyskanych eksperymentalnie widm podczerwonych z widmami teoretycznymi, uzyskanymi w wyniku

symulacji komputerowych umożliwiło szczegółową analizę drgań. Do tego celu zastosowano metodę obliczeniową z wykorzystaniem teorii funkcjonałów gęstości, z układem baz funkcji falowych 6-31G* i potencjału korelacyjno – wymiennego B3LYP, a także metodę skalowania częstości SQM, które według doniesień literaturowych dają dobre zgodności z eksperymentem (Pulay P. i inni 1979, 1983; Raunhut G., Pulay P. 1995). W wyniku zastosowanych procedur określono charakterystyczne dla makrocyclu porfirynowego drgania zarówno w płaszczyźnie pierścienia jak i poza płaszczyzną oraz dokonano ich przyporządkowania w oparciu o nomenklaturę funkcjonującą w literaturze. Stwierdzono, iż wartości częstości zidentyfikowanych drgań wykazują dobrą zgodność z wielkościami prezentowanymi w literaturze dla innych porfiryn, a ewentualne przesunięcia niektórych pasm absorpcji wynikają z obecności dodatkowych drgań pochodzących od podstawników. Należy zaznaczyć, iż dla prezentowanych pochodnych porfiryn brak jest doniesień literaturowych dotyczących spektroskopii IR. Przyporządkowania pasm absorpcji w podczerwieni dokonano również dla podstawników prezentowanych pochodnych. Położenia pasm absorpcji zgadzają się z zakresami częstości odnotowanymi w doniesieniach literaturowych. Przeprowadzona analiza uzyskanych wyników dodatkowo potwierdziła czystość i budowę cząsteczkową zsyntetyzowanych materiałów. Na podstawie otrzymanych rezultatów można wnioskować, iż zarówno wykorzystana procedura pomiarowa, jak i sposób opracowania wyników, polegający na zestawieniu wyników zastosowanej techniki obliczeniowej z wynikami eksperymentalnymi, są właściwe dla układów porfirynowych prezentowanych w ramach niniejszej rozprawy.

Metodą dyfrakcji promieni rentgenowskich podjęto próby określenia parametrów struktury pochodnych porfiryn. Wstępne pomiary dyfrakcji rentgenowskiej ujawniły amorficzny lub mieszany (amorficzno – krystaliczny) charakter badanych związków, co wykluczyło zastosowanie standardowych technik dyfrakcyjnych dla celów poznania ich struktury. W związku z powyższym zdecydowano i przeprowadzono pomiar z wykorzystaniem promieniowania synchrotronowego. Wykonane pomiary potwierdziły niski stopień uporządkowania badanych materiałów. Wyniki otrzymano z maksymalną wartością wektora rozpraszania równą 21.5 \AA , co umożliwia pozyskanie w przestrzeni rzeczywistej funkcji korelacji par atomów o dobrej rozdzielczości. Szczegółową analizę wyników doświadczalnych przeprowadzono poprzez zestawienie funkcji korelacji par atomów uzyskanej w trakcie pomiarów synchrotronowych z funkcją teoretyczną pozyskaną na drodze symulacji DFT. Zauważono dobrą zgodność położenia kilku najbardziej intensywnych maksimów funkcji korelacji par atomów, które reprezentują odległości pomiędzy atomami

tworzącymi wiązania chemiczne lub przekątne w pierścieniach budujących cząsteczkę porfiryny. Stwierdzono również, iż zakres PCF do 12 Å odzwierciedla przede wszystkim odległości wewnątrzcząsteczkowe. Uzyskane dane potwierdziły doniesienia literaturowe o występowaniu nieplanarności pierścienia porfirynowego, jak i odchylenia podstawników od płaszczyzny pierścienia. W zakresie 12 - 20 Å zanotowano rozbieżności w eksperymentalnej i teoretycznej PCF, co ma związek z brakiem uwzględnienia w toku obliczeń oddziaływań międzycząsteczkowych. Przeprowadzona procedura obliczeniowa umożliwiła pozyskanie danych o strukturze wewnątrzcząsteczkowej. Zastosowanie krótkotrwałej ekspozycji na promieniowanie rentgenowskie zminimalizowało prawdopodobieństwo rozkładu materiału organicznego, co stanowi istotny aspekt w toku poznawania właściwości związków wrażliwych na długotrwałe działanie promieni X, stosowane w technikach standardowych. Dodatkowym autem tej metody jest fakt, iż do celów eksperymentu wymagane są niewielkie ilości próbki, porównywalne z ilościami niezbędnymi do badań $^1\text{H-NMR}$. Stanowi to dużą zaletę w przypadku porfiryn, których proces otrzymywania jest stosunkowo mało wydajny.

W celu oszacowania potencjalnej użyteczności fotodynamicznej otrzymanych związków porfirynowych wykonano szereg pomiarów wielkości fizykochemicznych bezpośrednio związanych z ich aplikacją medyczną. Zbadano położenie pasm absorpcji i emisji w zakresie widzialnym i ultrafiolecie. Stwierdzono, iż dla wszystkich zmierzonych związków występują charakterystyczne pasma absorpcji złożone z intensywnego pasma Soreta położonego przy około 420 nm oraz znajdującego się w długofalowej części widma pasma Q. Dla sześciu spośród siedmiu pochodnych zaobserwowano, że stosunek intensywności poszczególnych składowych pasma Q zaliczany jest do typu *etio* (zgodnie z klasyfikacją Sterna), natomiast w przypadku pochodnej fenantrenowej do typu *rhodo*. Przesunięcie pasm absorpcji w stronę podczerwieni (położenie ostatniego maksimum pasma Q jest powyżej 640 nm) wskazuje na lepszą możliwość penetracji tkanek poprzez światło użyte do wzbudzenia potencjalnych fotouczulaczy (np. Photofrin® 630 nm – Podbielska i inni 2004). Wysokie wartości molowych współczynników absorpcji (rzędu $10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ dla pasma Q) wskazują na możliwość zastosowania niższych stężeń terapeutycznych potencjalnych fotouczulaczy w porównaniu z klinicznie stosowanym Photofrinem® (molowy współczynnik absorpcji rzędu $10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ dla pasma Q).

Analiza pasm emisji w zakresie UV/VIS wykazała występowanie niewielkiego przesunięcia Stokesowskiego pomiędzy pasmami absorpcji i emisji (maksymalnie 3 nm).

Istotną wielkością zarówno z punktu widzenia terapii jak i diagnostyki fotodynamicznej jest kwantowa wydajność fluorescencji. Wysoka wartość tego parametru

wskazuje na potencjalne zastosowanie badanego związku w PDT, natomiast niska sugeruje większe prawdopodobieństwo występowania przejść interkombinacyjnych, co jest efektem pożądanym w przypadku PDT. Wynaczenia kwantowych wydajności fluorescencji dla uzyskanych pochodnych porfiryn dokonano poprzez zastosowanie metody porównawczej względem literaturowej wartości eksperymentalnej bezwzględnej wydajności kwantowej fosforescencji terafenyloporfiryny. Uzyskane w ramach niniejszej rozprawy wartości tego parametru nie przekraczają 10%. Przejście wzbudzonej porfiryny do stanu trypletowego, a następnie proces przekazania energii cząsteczce tlenu są w przypadku otrzymanych pochodnych tetra-aryloporfiryn bardziej prawdopodobne. Oznacza to, iż w przypadku badanych związków potencjalnego ich zastosowania w metodzie fotodynamicznej należy oczekiwać raczej w terapii niż diagnostyce.

Wspomniany proces transferu energii z cząsteczki porfiryny na cząsteczkę tlenu, wskutek, którego powstaje toksyczny dla komórek tlen singletowy, stanowi istotę jednego z mechanizmów terapii fotodynamicznej. Wartość kwantowej wydajności tlenu singletowego stanowi ważny aspekt w toku klasyfikacji materiałów do potencjalnego zastosowania w PDT. Wykorzystanie laserowej fotolizy błyskowej umożliwiło wyznaczenie kwantowych wydajności tlenu singletowego dla zsyntezowanych związków. W tym celu użyto metody porównawczej, w której względną efektywność tworzenia tlenu singletowego wyznacza się względem eksperymentalnie ustalonej wartości bezwzględnej dla określonego wzorca (w tym przypadku tetrafenyloporfiryny). W wyniku przeprowadzonych pomiarów i obliczeń ustalono, iż wartości kwantowej wydajności tlenu singletowego dla badanych materiałów są zbliżone i wynoszą około 60%. Wartości te wskazują na potencjalną użyteczność badanych pochodnych porfiryn dla potrzeb terapii fotodynamicznej. Należy zaznaczyć, iż wartości te zależą od parametrów układu pomiarowego, m.in. od rodzaju rozpuszczalnika i powszechnie stosowanych fotouczulaczy tak jak np. dla Photofrinu[®] wynoszą od około 20% do 80% przy czym dla toluenu wartość ta wynosi 36% (Willkinson 1993).

W oparciu o przeprowadzone badania zsyntetyzowanych pochodnych tetra – aryloporfiryn można wnioskować, iż otrzymane w ramach niniejszej rozprawy związki charakteryzują się właściwościami fizykochemicznymi, których wartości wskazują na potencjalne wykorzystanie uzyskanych materiałów w terapii fotodynamicznej. W związku z powyższym w kolejnym etapie badań nad nowymi fotouczulaczami prezentowane pochodne porfiryn zostaną przekazane do badań o podłożu biologicznym.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW BADAŃ EKSPERYMENTALNYCH

1. Przeprowadzone reakcje syntezy i modyfikacji podstawników oraz zastosowana procedura rozdzielania i oczyszczania umożliwiła otrzymanie 7 mezo - podstawionych pochodnych porfiryn.
2. Przeprowadzone analizy z wykorzystaniem metod instrumentalnych: spektrometrii masowej (ESI MS) oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) potwierdziły strukturę cząsteczkową i czystość zsyntezowanych materiałów.
3. Pomiary przeprowadzone za pomocą spektroskopii w podczerwieni oraz ich zestawienie z obliczeniami teoretycznymi umożliwiły wyznaczenie charakterystycznych dla danych związków porfiryńowych częstości drgań, dodatkowo potwierdzając w ten sposób ich budowę chemiczną.
4. Analiza wyników pomiarów rentgenowskich pozwoliła na poznanie struktury związków porfiryńowych.
5. W celu oszacowania potencjalnej użyteczności fotodynamicznej określono parametry fizykochemiczne takie jak położenie pasm absorpcji i emisji w zakresie widzialnym i ultrafiolecie.
6. Na podstawie pomiarów spektroskopii absorpcyjnej UV/VIS wyznaczono molowe współczynniki absorpcji, których wartości wskazują na potencjalne zastosowanie związków w PDT czy PDD.
7. Rejestracja fluorescencji porfiryn umożliwiła wyznaczenie kwantowej wydajności fluorescencji, której niskie wartości wskazują na zwiększone prawdopodobieństwo przejść międzysystemowych.
8. Zastosowanie metody laserowej fotolizy błyskowej pozwoliło na wyznaczenie parametrów kwantowej wydajności tlenu singletowego, o wartościach rzędu 60% dla uzyskanych materiałów.

Uzyskane w ramach niniejszej rozprawy wyniki badań i analiz wybranych właściwości fizykochemicznych zsyntetyzowanych pochodnych tetra – aryloporfiryn wskazują na potencjalną użyteczność otrzymanych materiałów w terapii fotodynamicznej.

SPIS PUBLIKACJI I PREZENTACJI KONFERENCYJNYCH

- Jones P.G., Kuś P., **Pasewicz A.** *2,5,2'',5''-Tetramethyl-p-terphenyl*. *Acta Crystallographica Section E* **61** (2005) 1895 – 1896
- Kuś P., Wójcik K., **Pasewicz A.** *The chromatographic Behavior of Some meta and para – Alkyloxy Derivatives of Tetraphenylporphyrin*. *Journal of Planar Chromatography* **19** (2006) 146 – 150.
- **Pasewicz A.**, Idziak D., Kołoczek J., Burian A., Kuś P., Wrzalik R., Fennell, T. Honkimäki V. i Ratuszna A. *Pair correlation function analysis of 5-(4-hexadecyloxyphenyl)-10,15,20-tri(4-pyridyl)porphyrin and 5-(4-methoxycarbonylphenyl)-10,15,10-tri(4-pyridyl)- porphyrin* *Journal of Molecular Structure* **875** (2008) 167-172.
- Idziak D., **Pasewicz A.**, Kołoczek J., Burian A., Kuś P., Wrzalik R., Fennell, T. Honkimäki V. i Ratuszna A. *Molecular structure of 5,10,15,20-tetra(1-naphthyl)porphyrin and 5,10-di(4-hexadecyloxyphenyl)-15,20-di(4-pyridyl)porphyrin studied by high-energy X-ray diffraction*, *Chemical Physics Letters* **446** (2008) 36-42.
- Kuś P., Wójcik K., **Pasewicz A.** *Chromatographic separation of several meta and para mono-alkyloxy derivatives of tetraphenolporphyrin*, XXVIII Chromatographic Symposium, Szczyrk 2004.
- Foltyn A., Solik M., **Pasewicz A.**, Kuś P. *Chromatographic (TLC) behaviour of some tetraphenylporphyrin derivatives and calix[4]piroles*, XXIX Chromatographic Symposium, Szczyrk 2005.
- **Pasewicz A.**, Ratuszna A., Kuś P., Winiarski A., Waśkowska A. *Synteza i określenie własności fizykochemicznych mezo- podstawionych heksadekanoksyfenylo-pirydyloporfiryn* Katowicko – Krakowskie Sympozjum Fazy Skondensowanej 2005.
- **Pasewicz A.**, Idziak D., Kołoczek J., Burian A., Kuś P., Wrzalik R., Fennell T., Honkimäki V. and Ratuszna A. *Pair correlation function analysis of 5-(4-hexadecyloxyphenyl)-10,15,20-tri(4-pyridyl)porphyrin and 5-(4-methoxycarbonylphenyl) 10,15,10-tri(4-pyridyl)- porphyrin*, 8th International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Sciences, Zakopane 2006.

- Szurko A., Kramer-Marek G., Sochanik A., Wideł M., Kuś. P., Habdas J., **Pasewicz A.** & Ratusza A. *Liposome – conjugated novel porphyrins for photodynamic therapy of tumors*, 3rd Central European Conference Chemistry Towards Biology, Kraków 2006.
- Idziak D. **Pasewicz A.**, J. Kołoczek, A. Burian, P. Kuś, R. Wrzalik, T. Fennel, V. Honkimäki and A. Ratuszna: *Molecular structure of 5,10,15,20-tetra(1-naphthyl)porphyrin and 5,10-di(4-hexadecyloxyphenyl)-15,20-di(4-pyridyl)porphyrin studied by high-energy X-ray diffraction*, 8th International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Sciences, Zakopane 2006.
- **Pasewicz A.**, Idziak D. *Analiza strukturalna wybranych pochodnych porfiryn*, Katowicko – Krakowskie Seminarium Fizyki Fazy Skondensowanej, Rychwałd 2006.
- **Pasewicz A.**, Idziak D., Kołeczek J., Burian A., Kuś P., Wrzalik R., Fennell T., Honkimäki V. and Ratuszna A. *Investigations of physical and chemical properties of some synthetic porphyrins – potential photosensibilizers in photodynamic therapy (PDT)*, V Symposium on Medical Physics, III International Symposium on Medical Physics, Ustroń 20-23 wrzesień 2006.
- **Pasewicz A.** *Strukturalna analiza wybranych pochodnych porfiryn*, Katowicko – Krakowskie Seminarium Fizyki Fazy Skondensowanej, Zakopane 2007.
- Szurko A., Rams M., Sochanik A., Montforts F. P., Kuś P., Kozik V., Stefaniak M., Rojkiewicz M., Zięba G., **Pasewicz A.**, Ratuszna A. *Photophysical and biological studies of some novel photosensitizers with prospects for use in PDT*, Gliwickie Spotkania Naukowe 20-21.IX.2008.
- Wrzalik R., **Pasewicz A.**, Pasterny K. *Vibrational Spectroscopic Studies on Ester Derivatives of Pyridine Porphyrins*, IX International Conference on Molecular Spectroscopy Wrocław-Lądek Zdrój 12 - 16.09.2007
- **Pasewicz A.**, Wrzalik R., Pasterny K., Kuś P. i Ratuszna A. *Vibrational spectroscopic studies on pyridine derivatives of porphyrins*, Katowicko – Krakowskie Seminarium Fizyki Fazy Skondensowanej, 08.05.2009 Kraków.
- **Pasewicz A.**, Wrzalik R., K. Pasterny, Kuś P. i Ratuszna A. *Vibrational spectroscopic studies on pyridine derivatives of porphyrins - potential pdt agents*, VI Symposium on Medical Physics, IV International Symposium on Medical, Szczyrk 15-18 czerwiec 2009.
- Rams M., Szurko A., **Pasewicz A.**, Sochanik A., Stopa G., Karocki A., Rojkiewicz M., Kuś P., Ratuszna A. *Determining singlet oxygen quantum yield of*

photodynamic agents by flash photolysis measurements, Gliwickie Spotkania Naukowe 20-21.IX.2009.

- **Pasewicz A.**, Kuś P., Karocki A., Stopa G., Dąbrowski J.M., Rojkiewicz M., Zięba G., Kozik V. i Ratuszna A. *Synthesis and determination of photochemical and photophysical properties of some meso - substituted porphyrins as potential pdt agents*, Gliwickie Spotkania Naukowe 20-21.IX.2009.

BIBLIOGRAFIA

- Adler A.D., Longo F.R. *Mechanistic Investigations of Porphyrins Syntheses. I. Preliminary Studies on ms-Tetraphenylporphyrin*, J. Am. Chem. Soc. 86.(1964) 3145.
- Baker J , Woliński K. i inni *Quantum chemistry in parallel with PQS*, J. Comput. Chem. 30 (2009) 317.
- Ball R.H., Dorough G.D., Calvin M. *A futher Study of the Porphine – like Products of the Reaction of Benzaldehyde and Pyrrole*, J. Am. Chem. Soc. 68 (1946) 2278
- Balyuzi H.H.M. *Analytic Approximations to Incoherently Scattered X-Ray Intensities*, Acta Cyst. A31 (1975) 600.
- Becke A.D., *Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior*, Phys. Rev. A 38 (1988) 3098.
- Becke A.D. *A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories*, J. Chem. Phys. 98 (1993) 1372.
- Becke A.D., *Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange*, J. Chem. Phys. 98 (1993) 5648.
- Becke A.D. *Density – functional exchange – energy approximation with correct asymptotic behavior*, Phys. Rev. A 38 (1988) 3098.
- Brun A., Etemad – Moghadam G. *New Double-Chain and aromatic (α -Hydroxyalkyl)phosphorus Amphiphiles*, Synthesis 10 (2002) 1385.
- Bonnet R. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy* 1, Gordon & Breach Science Publisher London 2000.
- Bonnet R. *Photosentitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy*, Chem. Soc. Rev. (1995) 19.
- Champeney D.C. *Fourier transforms and their physical applications*, Academic Press.

London 1973.

- Chen B.M.L., Tulinsky A., *Redetermination of the Structure of Porphine*, J. Am. Chem. Soc. 94 (1972) p. 4144.
- Cowley J.M. *Diffraction Physics*, North – Holland Publishing Company, Amsterdam 1975.
- DeRosa M., Crutchley R.J. *Photosensitized singlet oxygen and its applications*, Coord. Chem. Rev. 233 (2002) 351.
- Desiraju G. R., Kashino S., Coombs M. M., Glusker J. P., *C-H-O Packing Motifs in Some Cyclopenta[α]phenanthrenes*, Acta Crys. B49 (1993) 880.
- Dolmans D.E., Fakumura D. Jain R.K. *Photodynamic therapy for cancer*, Nat. Rev. Cancer 3 (2003) 380.
- Dolphin D.: *The porphyrins, Volume I, Part B*, Academic Press New York, San Francisco, London 1978.
- Dolphin D.: *The porphyrins, Volume II, Part B*, Academic Press New York, San Francisco, London 1978.
- Dolphin D.: *The porphyrins, Volume III, Part A*, Academic Press New York, San Francisco, London 1978.
- Dolphin D.: *The porphyrins, Volume IV, Part B*, Academic Press New York, San Francisco, London 1979.
- Dougherty T.J. *Activated dyes as antitumor agents*, J. Natl. Cancer Inst. 52 (1974) 1333.
- Dougherty T.J. *Photosensitizers: therapy and detection of malignant tumors*, Photochem. Photobiol. 45 (1987) 879.
- Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G. Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. *Photodynamic therapy*, J. Natl. Cancer Inst. 90 (1998) 889.
- Fisher H., Gleim W. *Synthese des Porphins*, Ann. Chem. 521 (1936) 157.
- Fisher H., Orth H. *Die Chemie des Pyrrols I, II*, Akad. Verlagsges, Leipzig 1934, 1937.
- Fisher H., Stern A. *Die Chemie des Pyrrols II 2*, Akad. Verlagsges, Leipzig 1940.
- Flakus H.T. Miros A. *Infrared spectra of the hydrogen bond in pimelic acid crystals: polarization and temperature effects*, Spectrochem. Acta A 57 (2001) 2391.
- Flakus H.T. *The abnormal isotopic effect in the infrared spectra of the hydrogen bond in 2-thiapyridone*, J. Mol. Struc.THEOCHEM 89 (1982) 177.
- Foresman J.B., Frisch A.E., *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*,

Gaussian Inc., Pittsburgh, PA 1998.

- George S., Goldberg I. *5,10,15,20-Tetrakis(4-pyridyl)porphyrin tris(acetic acid) clathrate*, Acta Cryst. E61 (2005) o1973.
- Gowda B. T., Foro S., Sowmya B. P., Terao H., Fuess H. *N-(4-Chlorophenyl)-2-methylbenzamide*, Acta Cryst. E65 (2009) o389.
- Graczyk. A i inni *Fotodynamiczna Metoda Rozpoznawania i Leczenia Nowotworów*, Dom Wydawniczy Bellona W-wa 1999.
- Haidekker, Brady T.P. *Hydrophilic molecular rotor derivatives—synthesis and characterization*, Biorg. Chem. 32 (2004) 274
- Hammersley A. P., Svensson S. O. , Hanfland M., Fitch A. N. & Häusermann D., *Two-Dimensional Detector Software: From Real Detector to Idealised Image or Two-Theta Sca'*, High Pressure Research, 14 (1996) 235.
- Hammersley A. P. , *ESRF Internal Report*, ESRF97HA02T, ``FIT2D: An Introduction and Overview'', 1997.
- Hammersley A. P., *FIT2D: V9.129 Reference Manual V3.1''*, ESRF Internal Report, ESRF98HA01T, 1998 W.
- Hehre W.J., Radom L., Schleyer P.R., Pople J.A. *Ab Initio Molecular Orbital Theory*, Wiley 1986 New York.
- Hohenberg P., Kohn W. *Inhomogeneous Electron, Gas*, Phys. Rev. 136 (1964) 864.
- Hull A.W. *A New Method of X-Ray Crystal Analysis*, Phys. Rev. 10 (1917) 661.
- Ishikawa Y., Yamashita A., Uno T. *Efficient Photocleavage of DNA by Cationic Porphyrin–Acridine Hybrids with the Effective Length of Diamino Alkyl Linkage*, Chem. Pharm. Bull. 49 (2001) 287.
- Johnson B.G., Gill P.M., Pople J.A. *The performance of a family of density functional methods*, 98 (1993) 5612.
- Johnstone R.A.W.: *Spektrometria mas*, PWN Warszawa 2001.
- Karocki A., Drzewiecka-Matuszek A., Stochel G. *Fotochemia i Spektroskopia Optyczna: Laserowa Fotoliza Blyskowa. Wyznaczanie wpływu tlenu na kinetykę dezaktywacji wzbudzonych cząsteczek chlorofilu*, PWN Warszawa 2009.
- Khein A., Ashcroft N.W. *Generalized Density Functional Theory*, Phys. Rev. Lett. 78 (1997) 3346.
- Kisiel A., *Synchrotron as a tool: applications of synchrotron radiation in spectroscopy of the solid state*, Synchrotron Radiation in Natural Science 5 (2006) 3.
- Kittel C. *Wstęp do fizyki ciała stałego*, PWN Warszawa 1999.

- Klug H.P., Alexander L.E. *X – ray Diffraction Procedures: For Polycrystalline and Amorphous Materials*, Wiley – Interscience, 2nd Edition 1974.
- Kohara S., Suzuya K. *High – energy X – ray diffraction studies of disordered materials*, Nuc. Instrum. Methods Phys. Research B 199 (2003) 23.
- Kohn W., Sham L.J., *Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects*, Phys. Rev. A 140 (1965) 1133.
- Kozłowski P.M., Zgierski M.Z., Pulay P. *An accurate in – plane force field for porphine. A scaled quantum mechanical study*, Chem. Phys. Lett. 247 (1995) 379.
- Kozłowski P.M., Jarzęcki A.A., Pulay P. *Vibrational Assignment and Definite Harmonic Force Field for Porphine. 1. Scaled Quantum Mechanical Results and Comparison with Empirical Force Field*, J. Phys. Chem. 100 (1996) 7007.
- Kozłowski P.M., Jarzęcki A.A., Pulay P. *Vibrational Assignment and Definite Harmonic Force Field for Porphine. 2. Comparison with Nonresonance Raman Data*, J. Phys. Chem. 100 (1996) 13985.
- Kramer-Marek G., Serpa C., Szurko A., Wideł M., Sochanik A., Snietura M., Kuś P., Nunes R., Arnaut L., Ratuszna A. *Spectroscopic properties and photodynamic effects of new lipophilic porphyrin derivatives: Efficacy, localisation and cell death pathways*, Photochem. Photobiol. B 84 (2006) 1.
- Krol S. Notes – *A New Synthesis of Porphin*, J. Org. Chem. 24 (1959) 2065.
- Kunz C. *Synchrotron radiation: third generation sources*, J. Phys.: Condens. Matter 13 (2001) 7499.
- Kuś P., Knerr G., Czuchajowski L. *Porphyrins meso- Substituted with Phenanthrene and 1,10-Phenanthroline*, J. Heterocyclic. Chem. 27, (1990) 1161.
- Lee C., Yang W., Parr R.G. *Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density*, Phys. Rev. B 37 (1998) 785.
- Li H., Fedorova O., Grachev A., Trumble W., Bohach G., Czuchajowski L. *A series of meso-tris(N-methyl-pyridiniumyl)-(4-alkylamidophenyl) porphyrins: Synthesis, interaction with DNA and antibacterial activity*, Biochem. Biophys. Ac. 1354 (1997) 252.
- Li X.Y., Czernuszewicz R.S., Kincaid J.R., Spiro T.G. *Consistent Porphyrin Force Field. 3. Out – of – Plane Modes in Resonance Raman Spectra of Planar Nickel Octaethylporphyrin*, J. Am. Chem. Soc. 111 (1989) 7012.
- Li X.Y., Zgierski M.Z. *Porphine Force Field: In – Plane Modes of Free - Based Porphine. Comparison with Metalloporphines and Structural Implications*, J. Phys.

Chem. 95 (1995) 4268.

- Lin Y.C., Liou J.C., Lu T.H., Liaoa F.L., Chunga C.S. *5,10,15,20-Tetrakis[(4-ethylcarbonyl)oxy]-Phenylporphyrin*, Acta Cryst. E59 (2003) o969.
- Lindsey J.S. i inni *Rothmund and Adler-Longo Reactions Revisited: Synthesis of Tetraphenylporphyrins Under Equilibrium Conditions*, J. Org. Chem. 52 (1987) 827.
- Lindsey J.S. i inni: *Investigation of the Synthesis of Ortho-Substituted Tetraphenylporphyrins*, J. Org. Chem. 54 (1989) 828.
- Lindsey J.S. i inni: *Investigation of a Synthesis of meso-Porphyrins Employing High Concentration Conditions and an Electron Transport Chain for Aerobic Oxidation*, J. Org. Chem. 59 (1994) 579.
- Mazurkiewicz R., Rajca A., Salwińska E., Skibiński A., Suwiński J., Zieliński W. *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, Wydawnictwa Naukowo – Techniczne Warszawa 2000.
- Meerssche M., Feneau-Dupont, *Krystalografia i chemia strukturalna*, PWN W-wa, 1984.
- Mulhaupt G., Ruffer R. *Properties of synchrotron radiation Hyperfine Interactions*, 123 (1999) 13.
- Nalewajski R.F. *Podstawy i metody chemii kwantowej*, PWN W-wa 2001.
- Navaza A., De Rango C. *5,10,15,20-Tetraphenylporphyrin-Bis(trifluoroacetic acid)-Dioxouranium(VI) Trifluoroacetate*, Acta Cryst. C39 (1983) 1625.
- Oleś A. *Metody doświadczalne fizyki ciała stałego* WNT Warszawa 1998.
- Parker C.A., Rees T.W. *Correction of fluorescence spectra and measurement of fluorescence quantum efficiency*, Analyst 85 (1960) 587.
- Pasewicz A. *Synteza i określenie własności fizykochemicznych mezo – podstawionych heksadekanoksyfenylo – pirydyloporfiryn*, Praca magisterska UŚ 2008.
- Paszyc S. *Podstawy fotochemii* PWN Warszawa 1992.
- Patt J.R. *Radiation Biology Vol. III, Chapter 2* McGraw-Hill, New York 1956.
- Pielą L. *Idee chemii kwantowej*, PWN Warszawa 2006.
- Pineiro M., Carvalho A.L., Pereira M.M., Rocha Gonsalves A.M., Arnaut L.G., Formosinho S.J., *Photoacoustic Measurements of Porphyrin Triplet-State Quantum Yields and Singlet-Oxygen Efficiencies*, Chem. Eur. J. 4 (1998) 2299.
- Podbielska H., Sieroń A., Stręk i inni W. *Diagnostyka i Terapia Fotodynamiczna*, Wydawnictwo medyczne Urban & Partner Wrocław 2004
- Policard A. *Etudes sur les Aspects par des Tumeurs Experimentales Examonees a la*

Lumiere de Woods, Comp. Reud. Soc. Biol. 91 (1924) 1423.

- Poulsen H.F., Neuefeind J., Neumann H.B., Schneider J. R., Zeidler M.D. *Amorphous silica studied by high energy X-ray diffraction*, J. Non- Cryst. Solids 188 (1995) 63.
- Pulay P., Fogarasi G., Pang F., Boggs J.E. *Systematic ab Initio Gradient Calculation of Molecular Geometries, Force Constants and Dipole Moments Derivatives*, J. Am. Chem. Soc. 101 (1979) 2550.
- Pulay P., Fogarasi G., Pongor G., Boggs J.E., Vargha J.A. *Combination of Theoretical ab Initio and Experimental Information To Obtain Reliable Harmonic Force Fields for Glyoxal, Acrolein, Butadiene, Formaldehyde, and Ethylene*, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 7037.
- Raab O. *Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe and Infusorien*, Zeitung Biol 39 (1900) 524.
- Raunut G., Pulay P. J. *Transferable Scaling Factors for Density Functional Vibrational Force Fields*, Phys. Chem. 99 (1995) 3093.
- Raunut G., Pulay P. J. *Identification of Isomers from Calculated Vibrational Spectra. A Density Functional Study of Tetrachlorinated Dibenzodioxins*, J. Am. Chem. Soc. 117 (1995) 4167.
- Rothmund P. *Formation of porphyrins from pyrrole and aldehydes*, J. Am Chem. Soc. 57 (1935) 2010.
- Rothmund P. *New Porphyrin Synthesis. The Synthesis of Porphin^I*, J. Am Chem. Soc. 58 (1936) 625.
- Rothmund P. *Porphyrin Studies III. The structure of the Porphine Ring System*, J. Am Chem. Soc. 61 (1939) 2912.
- Shimizu O., Watanabe J., Imakubo K. and Naito S.: *Determination of Phosphorescence Quantum Yield of Singlet Oxygen $O_2(^1\Delta_g)$ Photosensitized by Phenalenone in Air-Saturated Carbon Tetrachloride*, J Phys. Soc. Jp. 67 (1998) 3664.
- Sieroń A., Kwiatkowski S. *Twenty years of experience with PDD and PDT in Poland- Review*, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 6 (2009) 73.
- Silvers S.J. i Tulinsky A. *The Crystal and Molecular Structure of Triclinic Tetraphenylporphyrin*, J. Am. Chem. Soc. (1972) 3331.
- Silverstein R.M., Webster F. X., Kiemle D.J. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, PWN Warszawa 2007.
- Stern A., Wenderlein H. *Ueber die Lichtabsorption der Porphyrine*, Z. Phys. Chem. A.174 (1935) 81.

- Takagi S., Yamamura T., Nakajima M. i inni: *Synthesis of Amphiphilic Porphyrins*, Bull. Chem. Soc. Jp 54 (1981) 3879-3880.
- Thomas D.W., Martell A.E. *Tetraphelylporphine and Some para – Substituted Derivatives* J. Am. Chem. Soc. 78 (1956) 1335.
- von Tappeiner H, Jesionek A. *Therapeutische versuche mit fluoreszierender Stoffen*, Muench Med. Wochenschr. 47 (1903) 2042.
- von Tappeiner H, Jodlbauer A. *Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen Gesamte Untersuchungen uber die photodynamische Erscheinung*, Voger FC Lipzig 1907.
- Willkinson F., Helman W.P., Ross A.B. *Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution*, J. Phys. Chem. Ref. Data 22 (1993) 113.
- Wróbel i inni *Preparatyka i elementy syntezy organicznej*, PWN Warszawa 1983.
- Waasmaier D. and Kirfel A. *New Analytical Scattering – Factor Functions for Frez Atoms and Ions*, Acta Cryst. A51 (1995) 416.
- Wagner C.N.J. *Direct methods for the determination of atomic – scale structure of amorphous solids (X-ray, electron, and neutron scattering)*, J. Non – Cryst. Solids 31 (1978) 1.
- Walawalkar M.G., Nethaji M., Krishnan V. *Structure of a Non-Mesogen Porphyrin, 5,10,15,20-Tetrakis(4-(1-hexyloxy)phenyl)porphyrin*, Acta Cryst. C49 (1993) 479.
- Warren B.E. *X – ray diffraction*, Addison – Wesley Publishing Company, Massachusetts 1969.
- Witkiewicz Z.: *Podstawy chromatografii*, Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, Warszawa 1992.
- Varsanyi G. *Assignments for Vibrational Spectra of Seven Hundred Benzene Derivatives*, Wiley New York 1974.
- Zieliński W., Rajca A.: *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, Warszawa 2000.